

[J. Ferment. Technol., Vol., 49, No. 5, p. 457~465, 1971]

## 清酒醸造用水中の鉄分の定量

戸塚 昭, 泉谷 武信, 難波康之祐, 小武山温之

(国税庁醸造試験所)

## Determination of Iron in Brewing Water

Akira Totsuka, Takenobu Izumitani, Yasunosuke Namba  
and Yasuyuki Komuyama

(Research Institute of Brewing, Takinogawa, Kita-ku, Tokyo)

The atomic absorption spectrometric (AA) method for determination of iron in brewing water has been studied in comparison with the conventional methods using orthophenanthroline or  $\alpha, \alpha'$ -dipyridyl.

Twenty five ml of brewing water (iron content 0.3-0.01 ppm) was added with 1 ml of 6N HCl and concentrated to 20 ml in an oven at 110°C. Concentrated mixture was adjusted to pH 2.5-3.0 by the addition of 2 ml of 25% (W/V) sodium acetate solution, and then 1 ml of 2% ammonium pyrrolisone dithiocarbamate (APDC) solution was added to the mixture as a chelating agent. After shaking the mixture, it was added with 5 ml of saturated solution of methyl-isobutyl ketone (MIBK) and was shaken again vigorously for 2 minutes, and then the iron content of the solvent layer was determined by the AA method. Results of this procedure correspond closely with the expected values. Another recovery test by the conventional procedure was also performed by adding 2 ml of 6N HCl to 50 ml sample which was then dried up in an oven at 110°C. Mineral was extracted with N/2 HCl and the iron content of the extract was determined by the AA method. This procedure was applicable to water containing a humic substance, while this procedure gave somewhat lesser recoveries compared with the APDC-MIBK extraction procedure (92-96%).

Colorimetric determination of iron by the direct orthophenanthroline (OPT) method, HCl hydrolysis-OPT (HCl-OPT) procedure and direct  $\alpha, \alpha'$ -dipyridyl (DP) method were compared with that by the AA method. It was found that a good recovery was obtained by the HCl-OPT procedure compared with the AA method, while the OPT and DP method showed poor recoveries.

## 緒 言

鉄分の存在が清酒の着色に直接関与し、いわゆる“色もどり”現象を生じるとともに、香味の劣化をもたらすことは古くから経験的に知られている。その着色機構については1967年に到って Tadenuma らにより清酒に混入した鉄が  $Fe^{3+}$  の型で非含鉄ペプチド deferriferrichrysin と結合して、含鉄ペプチド ferrichrysin を形成し清酒の着色を増加することが解

明された。一方、市販清酒は年々淡色化の傾向にある<sup>2)</sup>ため、着色を増進させる因子の排除については市販清酒の品質基準の一環としてきわめて重要な操作となっている。

清酒醸造用水中の全鉄については、20 ppb が限度といわれ<sup>3)</sup>、食品工業用水の中でも特に厳しい条件である。かような微量鉄分の測定法として清酒醸造用水に応用されたものとしては  $\alpha, \alpha'$ -dipyridyl 法<sup>4,8,9)</sup>、o-

phenanthroline 法<sup>5)</sup>, ロダン法<sup>3,6,31)</sup>, マンガン共沈法<sup>7)</sup>がある。

一般の用水中の鉄分測定法として公定法でとりあげられたものには, 過マンガン酸カリ法<sup>10)</sup>,  $\alpha, \alpha'$ -dipyridyl 法<sup>11)</sup>, *o*-phenanthroline 法<sup>12,32)</sup>, ammonium rhodanide-thioglycollic acid 法<sup>13)</sup> 等がある。鉄については抽出試薬, 比色試薬の開発がきわめて盛んであり, dipyriddy 系では batho-phenanthroline<sup>23,24)</sup> がまた, 最近では Ferrozine による微量鉄分の測定<sup>25)</sup> など多くの報告がある。しかしながら操作の簡便さと測定値の信頼度のうえから優れているものは原子吸光分析法<sup>21,22)</sup>である。

われわれは醸造用水中の鉄分測定に原子吸光法を用い,  $\alpha, \alpha'$ -dipyridyl 法, *o*-phenanthroline 法と比較検討し, 2, 3の知見を得たので報告する。

### 実験方法

1. 試料 清酒製造場の醸造用水を塩酸洗滌ポリエチレンびん (1ℓ容) に収集したものを試料とし, 2°C で保存した。

2. 分析機器および条件 1) 原子吸光法 日立原子吸光分光光度計 207型を用いた。光源はホローカソードランプ, Fe-Ni-Cu 複合ランプ, バーナーは標準バーナーを“0”位置で使用した。測定条件は波長 2485 Å, 電流 14.2 mA, スリット 1, 燃焼系は空気流量 13 ℓ/min, アセチレンガス流量 2.2 ℓ/min (有機溶媒抽出時) または 3 ℓ/min (塩酸抽出時) とした。

溶媒抽出法による鉄濃度の測定にあたっては methyl isobutyl ketone (MIBK) 飽和水溶液により零点補正を行なうとともに, 試料と試料の間には MIBK を噴霧した。塩酸抽出法においては脱イオン水により零点補正および試料間の噴霧を行なった。

原子吸光法においてチャート上に得られるピークの高さは必要に応じてスケール拡大したが, 検出限度は signal/noise 比が 2.0 の点とした。

溶媒抽出法の標準系列は試料と同様に処理し, 塩酸抽出法では調整した系列をそのまま用いた。

2) 比色法 日立 FPW-4 型分光光度計を用い 50mm (*o*-phenanthroline 法) または 30 mm ( $\alpha, \alpha'$ -dipyridyl 法) の吸収セルで 530 m $\mu$  の吸光度を測定した。

3) 原子吸光法, 比色法のいずれについても操作は 1 試料について 3 点実施し, 得られた値のうち近似した 2 点の平均値をもって求める鉄濃度とした。なお, 近似した値 2 点の差が 5% を越える場合は, 亡失あるいは外部からの汚染が考えられるので, 再実験を実施した。

3. 試薬 塩酸は精密分析用定沸点無鉄塩酸 (20% 塩酸) をそのまま, または適宜希釈し使用した。2% ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (APDC) 溶液は高純度特級 (原子吸光分析用) 1g を 50 ml の脱イオン水に溶解し, 沈澱を生じるときは東洋ろ紙 No. 5C を用いて濾別し, その濾液を用いた。なお, APDC 溶液はその都度調整した。

Methyl isobutyl ketone (MIBK) (東京化成工業 KK) は試薬特級をパイレックス蒸留装置を用いて再蒸留し, 116~117°C の留出区分を採取し, 脱イオン水で飽和した。

25W/V% 酢酸ナトリウム溶液は高純度特級 (アミノ酸自動分析用) 結晶酢酸ナトリウムを無水物として 25W/V% となるよう脱イオン水に溶解した。

シリカについては原子吸光分析用ケイ素標準溶液 1,000 ppm (ロット番号 DJ 1068) を用いた。

比色法については, 試薬はいずれも JIS 特級規格あるいは製薬業者の社内規格で JIS 特級以上の品位を保証したものをを用いた。

試薬は特に記さない限り和光純薬工業 KK の製品を使用した。なお, 試薬の秤量に際してはガラス製またはテフロン製スプーンを使用し, 金属の汚染をできうる限り防止した。

標準溶液は和光純薬工業株原子吸光分析用鉄標準溶液 1,000 ppm (ロット番号 E08416) をその都度脱イオン水で希釈し調整した。なお, 塩酸抽出法の場合は, 希釈の際塩酸濃度が 1/2 N となるよう調整し, 所定の系列を作成した。

脱イオン水は銅製蒸留器を用いて得られた蒸留水をアンバーライト IR 120B-IRA 410 (複床式) を用いて脱イオンし, 比電導度 0.6  $\mu\text{S}/\text{cm}$  以下としたのち, 鉄が含有されていないことを確認してから使用した。

4. ガラス器具 すべて 2 N 塩酸中に 30 分間以上浸漬し特にキエルダール分解びんは熱王水処理を行い, いずれも使用直前に蒸留水および脱イオン水で十分洗滌し, 金属の汚染を防止した。

### 実験結果

#### 1. 原子吸光法による用水中鉄量の測定

用水中の鉄分はきわめて複雑な形態をしており, 分析法を異にすると得られる鉄量に差を生じる<sup>26)</sup>。本報告ではいわゆる「酸可溶性鉄」を対象とした。

1) 有機溶媒抽出法 用水中の塩酸可溶性鉄を APDC<sup>20)</sup> により鉄錯化合物としたのち, MIBK を用いて水層より抽出し, 鉄錯化合物を含有する溶媒層を原子吸光法に供する方法<sup>17,18)</sup>を検討した。

イ pH の影響 錯化合物の生成は pH の影響をうけやすいが, APDC は広範囲の pH で錯化合物を生成する。しかしながら, 用水中の塩酸抽出鉄の測定に際しては, 塩酸酸性下沸騰あるいは濃縮等の前処理を施すため, APDC-Fe 錯化合物を良好な条件の下で生成させるには, 前処理に続いて pH の調整を行なう必要がある。塩酸および苛性ソーダを用いて pH 1~8 の範囲とした鉄濃度 0.1 ppm の試料 25 ml を 50 ml 容共栓付遠沈管 (溶媒層と水層の分離が良好で遠心分離の必要のない試料では, 50 ml 共栓付試験管等を用いた) にとり, 2% APDC 1 ml を加え混合後 MIBK 5 ml を加え 2 分間はげしく振盪し, 錯化合物を水層から溶媒層へ転溶する。次いで必要とあれば 1500 g, 10 分間遠心分離し, 溶媒層を原子吸光分光分析に供した。なお, 共栓付遠心管の代わりにバブコックびんを用いると試料を噴霧する際きわめて操作しやすかった。

Fig. 1 に示すように pH 2.50 のとき回収が良好である。しかしながら pH メーターを用いて pH の調整

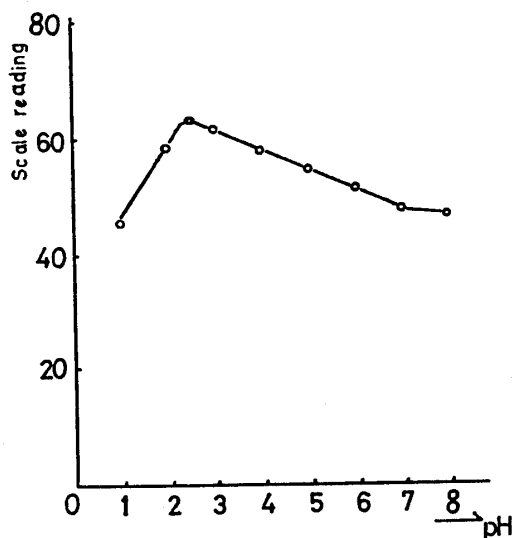


Fig. 1. Effect of pH on the formation of Fe-APDC complex.

を行なうことは多数の試料を処理する場合には困難を伴う。また苛性ソーダを用いて所定の pH とすることは難しいので, 溶液に緩衝作用をもたせる意味もあって一定量の酢酸ソーダ溶液を添加する方法を検討した。

用水 25 ml に塩酸 1 ml を添加し, 20 ml まで濃縮後酢酸ソーダ溶液 2 ml を添加したときの pH の範囲は Table 1 に示すように pH 2.50~3.04 にわたり, pH 3.0 では pH 2.5 のときよりも約 1% 低い値を示すが, 実験誤差の範囲内と認められるので, 操作の簡易化という点から 2 ml の酢酸ソーダ溶液を添加する

Table 1. pH adjustment.

Sample	Initial	After addition
1	0.62	2.97
2	0.63	2.97
3	0.62	3.03
4	0.64	2.97
5	0.64	3.02
6	0.64	2.89
7	0.64	2.85
8	0.64	2.96
9	0.62	3.04
10	0.63	2.50

pH was adjusted by the addition of 2 ml Na-acetate solution (0.25w/v) to the 25 ml brewing water containing 1 ml of 6N HCl. average pH 2.92, min. pH 2.50 and max pH 3.04

こととした。

ロ APDC 濃度の検討 鉄を 1 ppm 添加した試料に APDC 1~10% (W/V) 溶液を 1 ml ずつ添加し, MIBK により抽出し原子吸光法により鉄濃度を測定した結果から (Table 2) APDC 濃度は安全をみて 2% とした。

Table 2. Effect of APDC concentration. (1 ppm Fe added).

Concentration of APDC %	Chart reading mm
1	49.5
2	50.0
3	50.2
4	50.0
5	49.9
6	50.2
10	50.1

ハ APDC 反応時間の検討 試料に APDC を添加してから MIBK を添加するまでにどの程度の時間を必要とするか検討した。Fig. 2 から明らかなように 20°C においては APDC を加え 3 分間経過すると APDC は鉄と完全に結合する。通常の操作においては試料に APDC を添加してから混和し, その後 MIBK に転溶するのに 3 分以上かかるので, APDC を添加してから MIBK を添加するまでの時間を規定する必要はない。むしろ APDC-鉄錯化合物を MIBK に転溶する振盪方法が重要で Fig. 3 に示すように, 少なくとも 80 秒間の振盪を必要としたので安全性を加味し

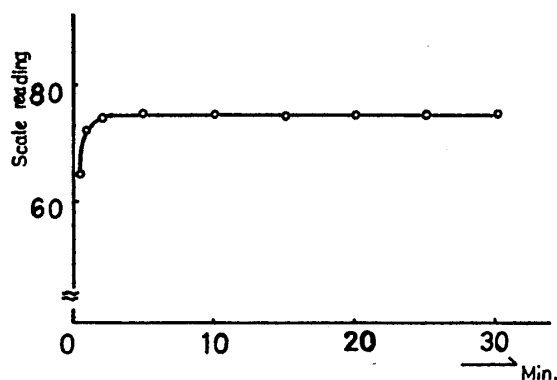


Fig. 2. Reaction time with Fe and APDC.

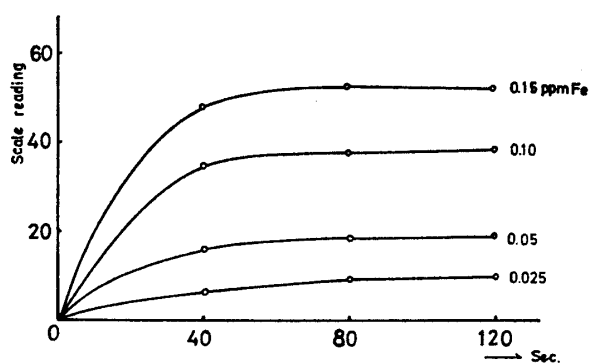


Fig. 3. Effect of shaking time.

て2分間の振盪とすることとした。

二 回収率 5種類の用水 25 ml にさらに 0.05, 0.10 ppm の鉄と塩酸 1 ml を添加し, 115°C で 20 ml まで濃縮した。次いで酢酸ソーダ溶液 2 ml を添加し pH を調整したのち, APDC 1 ml, MIBK 5 ml を添加, 振盪後原子吸光法で鉄濃度を測定した。Table 3 に示すようにきわめて良好な回収率を得た。同様に処

Table 3. Recovery of iron by APDC-MIBK extraction.

Sample No	Present ppm	Fe 0.05 ppm added		Fe 0.1 ppm added	
		Measured ppm	Recovery %	Measured ppm	Recovery %
1	0.116	0.162	97.6	0.211	97.7
2	0.106	0.159	101.9	0.204	99.0
3	0.042	0.090	97.8	0.144	101.4
4	0.025	0.075	100.0	0.129	103.2
5	0.008	0.060	103.4	0.108	100.0

理して得られた標準曲線と, 既知濃度の鉄標準溶液を試料に添加し, 直線外挿法により鉄濃度の確認を行った結果は Fig. 4 のとおりである。なお, 濃縮時に乾固すると Table 4 に示すように, 鉄が吸着され Fe-APDC の生成が阻害されることもあるので注意する

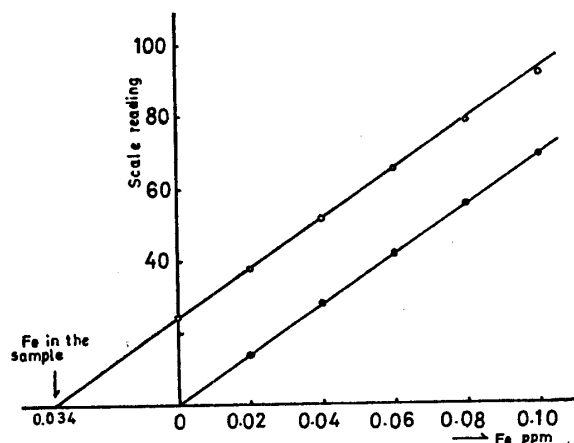


Fig. 4. Calibration and standard addition curve for determination of iron. (APDC-MIBK extraction)

●-● calibration curve  
○-○ standard addition curve

Table 4. Effect of treatment (ppm)

Sample	Methods of treatment	Concentrated to 1/10 vol.		
		APDC-MIBK	HCl	APDC-MIBK
1		0.106	0.072	0.080
2		0.045	0.037	0.040
3		0.017	0.017	0.016

Sample 1 gave rise much crystal, sample 2 feathery crystal and sample 3 little crystal at dry up.

必要がある。また, 次に述べる塩酸抽出法において前処理を施した際, 角板状, 羽毛状等の結晶あるいはきわめて多量の沈澱を生ずる用水は, 結晶あるいは沈澱中に鉄を強固にとりこみ, 塩酸でそれらの鉄を完全に抽出できず, 回収率の低下をまねくのでこのような用水については有機溶媒抽出法を採用すべきである。

2) 塩酸抽出法 有機溶媒抽出法は一時に多数の試料を処理する場合には転溶操作が繁雑となるので, 簡便法として塩酸抽出法を設定した。前処理として試料 50 ml を共栓付 50 ml キエルダール分解びんにとり, 塩酸 2 ml を加え 10 ml ビーカーで蓋をしてから 115°C において蒸発乾固した。次に N/2-塩酸 5 ml を加えて栓をして軽く加温, 振盪したのち, 10 ml 容共栓付遠沈管に移し原子吸光分光分析を行なった。

イ 回収率 5種類の用水に 0.10, 0.20 ppm の鉄をさらに添加し, 前処理を施してから原子吸光法により鉄濃度を測定した結果は Table 5 に示したように, 92~96%の回収率を示した。また, 標準添加法による

Table 5. Recovery test of iron by HCl extraction.

No	Fe 0.1 ppm added		Fe 0.2 ppm added		
	Present ppm	Measured ppm	Recovery %	Measured ppm	Recovery %
1	0.102	0.187	92.6	0.285	94.4
2	0.072	0.162	94.2	0.252	92.6
3	0.056	0.146	93.6	0.247	96.5
4	0.032	0.122	92.4	0.216	93.1
5	0.016	0.108	93.1	0.206	95.4

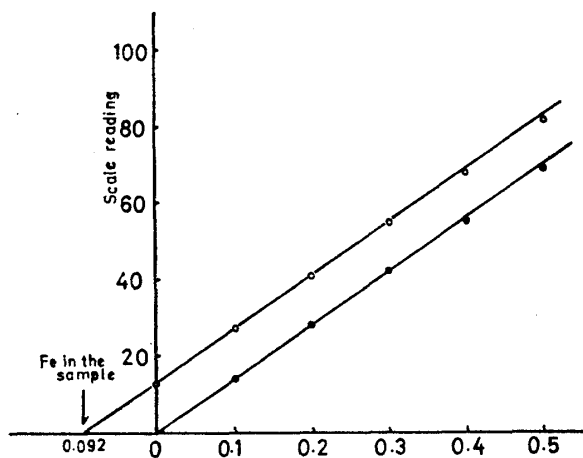


Fig. 5. Calibration and standard addition curve for determination of iron (HCl extraction).

●-● calibration curve

○-○ standard addition curve

確認を行なったところ, Fig. 5 に示すように直線関係が得られた。

ロ 抽出酸濃度の影響 原子吸光法により全鉄の定量を実施する場合, 酸濃度が吸光度に干渉を示すので<sup>34, 35, 36</sup>, 抽出時の酸濃度を検討した。Table 6 に示すように N/2-塩酸濃度までは測定値に影響がない。

Table 6. Effect of HCl concentration.

Sample	Normality	Chart reading (mm)	vs. Sample 1 %
1	—	64.2	100.0
2	0.126	64.5	100.5
3	0.253	64.5	100.5
4	0.389	64.0	99.7
5	0.523	64.0	99.7
6	0.651	64.0	99.7
7	1.305	62.0	96.6
8	1.970	61.1	95.2
9	2.640	61.0	95.0

50  $\mu$ g Fe was used.

ハ シリカの影響 鉄を 0.25 ppm, 0.50 ppm 含有する試料に  $\text{SiO}_2$  として 0~50 ppm 添加し, 前処理を施さずに原子吸光分析に供したところ, Fig. 6 に示すように正の干渉を認めた。

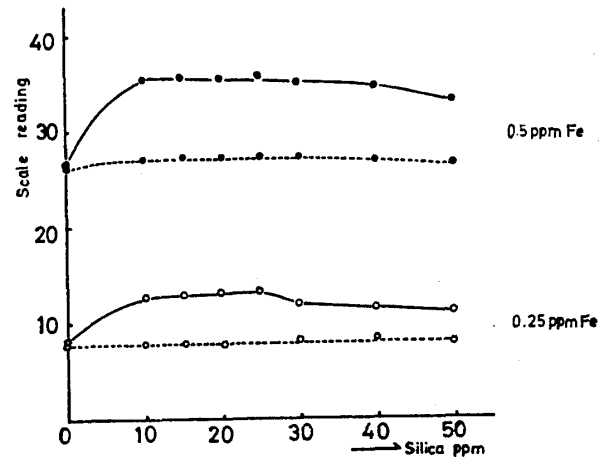


Fig. 6. Effect of silica.

— direct, --- HCl treatment

シリカの干渉は塩酸酸性下試料を濃縮し, 塩酸で抽出することにより防ぐことが出来ることは Fig. 6 より明らかである。なお, Curtis はアセチレン流量を増加させた還元炎状態で  $\text{SO}_4^{2-}$  等の陰イオンの影響を認めているが<sup>27</sup>, 通常使用する酸化炎の状態では影響がなかった。

二 腐植質の影響 陸水中には腐植質と結合した型の鉄の存在が知られているが<sup>26</sup>, 醸造用水についても一部この形態の鉄を含有していると推定される用水を認め<sup>37</sup>ので, 鉄の測定に及ぼす腐植質の影響について検討した。

a) 腐植試料の調整 醸造試験所構内の土壌 (20 mesh の篩を通過したもの) 200 g を 13 l 容ポリバケツにとり, N/10-NaOH 溶液 7.050 ml (土壌中の炭素化合物を 10% と仮定してその 300 倍量使用) を添加し, 室温で 1 晩放置後 9000 g 20 分間遠心分離し, 上澄液を腐植試料とした。試料の pH は 12.8 であった。

b) 全鉄の測定 A 直接法 腐植試料をそのまま原子吸光分析に供した。

B 塩酸分解法 30 ml 容キエルダール分解びんに腐植試料 25 ml をとり塩酸 2 ml を加え, 115°C において濃縮乾固後 4-N 塩酸 2.5 ml で抽出, 東洋ろ紙 No. 5C を用いて濾過し, 脱イオン水による洗液を合わせて 25 ml とした。

C 湿式灰化法 30 ml 容キエルダール分解びんに腐植試料 25 ml をとり, 硝酸一過塩素酸を用いて湿式灰化したのち, 4N 塩酸 2.5 ml を用いて抽出, 東洋

ろ紙 No. 5C を用いて濾過し, 脱イオン水による洗液とあわせて 25 ml とした. なお, B, C については盲検を行ない測定値から差引いた. Table 7 に示すように, 直接法では塩の影響等から湿式灰化法で得られ

Table 7. Iron in humus.

Treatment	Iron ppm	vs. wet digestion %
Direct	26.66	95.7
HCl	27.39	98.3
Wet digestion	27.86	100.0

た値よりも約 5% 低い, 塩酸分解法では約 2% 低いだけで腐植中の鉄を定量できる. このことから, 腐植を含有する用水についても塩酸分解法が適用できる.

## 2. 比色法との比較

全鉄測定法として原子吸光法 (塩酸抽出法), *o*-phenanthroline (OPT) 法,  $\alpha, \alpha'$ -dipyridyl (DP) 法を用い, 醸造用水中の鉄分を測定, 比較した.

1) *o*-phenanthroline (HCl-OPT) 法は工業用水試験方法 (JIS K0101-1966) 49.1 による<sup>12)</sup>. なお, Table 9, 10 では塩酸処理を施さずに OPT で溶存鉄を測定したものを Direct-OPT として示した.

2)  $\alpha, \alpha'$ -dipyridyl 法は国税庁所定分析法 201-10 による<sup>9)</sup>.

A 腐植質の影響 腐植質の鉄定量におよぼす影響について検討した結果を Table 8 に示した. 試料 1~3 は脱イオン水に塩化第一鉄を溶解したもので, 試料 1'~3' はさらに前述の方法で調整した腐植質を 0.1% 添加したもので, 試料 4~6 は脱イオン水に塩化第二鉄を溶解したもので, 試料 4'~6' はさらに腐植質を 0.1% 添加したもので, 原子吸光法と HCl-OPT 法はきわめて近似した値を示したが, DP 法はかなり低い値を与えた.

B シリカの影響 鉄を含む試料に  $\text{SiO}_2$  として 25 ppm, 50 ppm 添加しシリカの影響を検討した. Table

Table 8. Effect of humus.

Type of Fe	Humus added	Sample	$\alpha, \alpha'$ -Dipyridyl ppm	HCl-Ortho-phenanthroline ppm	Atomic-absorption ppm
Ferrous chloride	non	1	0	0.015	0.010
	non	2	0.03	0.295	0.283
	non	3	0.16	0.500	0.504
	0.1%	1'	0.03	0.050	0.039
	0.1 "	2'	0.13	0.356	0.350
	0.1 "	3'	0.16	0.501	0.492
Ferric chloride	non	4	0	0.00	0.005
	non	5	0.03	0.100	0.102
	non	6	0.13	0.360	0.362
	0.1%	4'	0	0.050	0.042
	0.1 "	5'	0.10	0.145	0.122
	0.1 "	6'	0.16	0.355	0.342

9 に示すように DP 法ではシリカの干渉が認められた.

## 3. $\alpha, \alpha'$ -dipyridyl (DP) 法の検討

DP 法で用水中の全鉄が不検出であるのにもかかわらず, 清酒の酒質劣化速度の早い製造場の用水について OPT 法, 原子吸光法を適用したところ, 0.075 ppm の鉄を検出した. そこで DP 法鉄不検出の用水について OPT 法, 原子吸光法により検討したところ Table 10 に示すように含有量の差こそあれ, いずれも鉄を検出した. しかし, この原因が腐植質とシリカのみでは説明し難い点があるのでさらに検討をすすめた. まず加工水を調整し, これから塩を一つずつはずした系を試料とした. Table 11 から明らかのように,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  を除いた場合には DP 法で得られる値は OPT 法の 41.8% と他の系が OPT 法の 68.9~81.3% を示すのに対し, 明らかに低い値であった.

この結果に基づき,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  を除いた試料について検討をすすめた. すなわち Table 12 の組合せをつくり鉄濃度を測定したところ, 正リン酸を加えさらに

Table 9. Effect of silica.

Addition	DP		Direct-OPT		HCl-OPT		AA	
	0.250	0.450	0.250	0.450	0.250	0.450	0.250	0.450
Fe ppm								
Silica 25 ppm	21.1%	30.3%	5.3%	11.4%	99.0%	100.8%	101.9%	100.9%
50 ppm	40.4	28.2	16.8	13.9	100.0	103.4	104.9	103.5

This table shows the recovery of iron at the presence of silica.

DP;  $\alpha, \alpha'$  dipyridyl, OPT; orthophenanthroline, AA; atomic absorption

Table 10. Comparison of iron analysis. (ppm)

Sample	DP	Direct-OPT	HCl-OPT	AA
1	0	0.010	0.048	0.047
2	0	0.013	0.075	0.075
3	0	0.010	0.011	0.012
4	0	0.004	0.008	0.009

Table 11. Effect of salts on the iron determination. (ppm)

Sample	DP	HCl-OPT	AA
control	0.20	0.300	0.291
-NaCl	0.24	0.295	0.272
-KCl	0.21	0.300	0.291
-CaCl <sub>2</sub>	0.22	0.305	0.288
-CaCl <sub>2</sub> , KCl, NaCl	0.20	0.295	0.282
-MgSO <sub>4</sub>	0.21	0.305	0.283
-K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0.12	0.287	0.277

Control contains following salts; FeCl<sub>3</sub>, 1.466 mg; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 4.6 mg; KCl, 24.7 mg; NaCl, 76.0 mg; CaCl<sub>2</sub>, 14.8 mg; MgSO<sub>4</sub>, 12.0 mg and filled up to 1 L with deionized water, pH 6.1. Fe, Mg, K, Na, PO<sub>4</sub>, SO<sub>4</sub> and Cl ions were 0.300, 5.4, 2.3, 15.0, 30.0, 2.5, 9.6 and 67.3 ppm, respectively.

Table 12. Effect of PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> on the iron determination by  $\alpha, \alpha'$  dipirydil

Sample	DP	(DP/AA) × 100
control	ppm 0.100	% 39.7
+2 $\mu$ mol H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	0.085	30.7
+2 $\mu$ mol H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> + M/10 acetate buffer pH 5.5	0.240	86.6
HCl-treatment	0.140	50.5

Control was -K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> in table 11 and Fe was 0.277 ppm by AA.

pH の調整を行なった系が一番よかったが、その場合でも得られた値は原子吸光法の86.6%にとどまった。

### 考 察

原子吸光法による水中の微量金属の測定については、FISHMAN<sup>14)</sup>が手がけて以来、広く利用されつつある<sup>15,16)</sup>。

用水中の全鉄は測定方法が異なると得られる値に差を生ずるが、この多くは前処理の差に起因する<sup>20)</sup>。酸可溶性鉄を対象とした場合、原子吸光法の採用はきわめて有効といえる。すなわち、塩酸酸性下濃縮または

煮沸したうえ、APDC-MIBK により濃縮抽出し、溶媒層をそのまま原子吸光法に供することにより容易に鉄の定量が可能であることは、回収率および標準添加法による確認からも明らかである。

APDC は dithiocarbamate の一種として H. MALISSA らにより合成されたキレート試薬で、酸性溶液において多くの金属イオンを水に不溶性の錯化合物とし、しかもこの錯化合物は MIBK により速やかに転溶抽出される。このような性質は希薄溶液中の微量金属の溶媒抽出法としてきわめて有効であるため、原子吸光法では多くの金属の抽出に応用されている<sup>21,22)</sup>。また、APDC-MIBK 抽出は anion の干渉を除外しうるうえ、MIBK のいわゆる有機溶媒効果によって感度が上昇する<sup>18)</sup>といった利点がある。APDC による鉄錯化合物は pH 2.5 に最適生成 pH があるが、試料を塩酸処理後一定量の酢酸ソーダにより pH を調整することにより、pH 2.5~3.0 の範囲に保持しうるので、ほぼ初期の目的を達することができる。

APDC-鉄錯化合物を MIBK に転溶する際の振盪はきわめて重要であり、再現性不良の場合その原因のひとつがここにあった。なお、溶媒層に転溶後の遠心分離は多くの場合必要なかったが、なかには水層と溶媒層の分離が不良のものがあり、この場合は遠心分離を行なった。鉄の場合はマンガンにみられる加水解離による「水層への金属のすみやかな逆抽出」といった現象<sup>23)</sup>は認められなかったが、溶媒抽出後室温に一晩放置した場合には明らかに水層への金属の移行があった。したがって、水層と溶媒層の分離はできるだけ手早く行なうことが望ましいものと思われる。

一般に醸造用水のように、成分的にかなり厳しい条件を満足しているものは、蒸発乾固時多量の結晶や沈澱を生じないので、簡便法として設定した塩酸抽出法を10%の分析誤差の範囲内で適用することができる。この場合抽出に用いる塩酸濃度をあげれば、多量の結晶や沈澱を生じた場合にもその中にとりこまれた鉄をより多く抽出するものと思われるが、酸濃度の影響があらわれるので、むしろ有機溶媒抽出法を用いた方がよい。

簡便法の採用にあたり留意すべき点の一つにキエルダール分解びんの洗滌がある。数多くの試料のうちには N/2-HCl で十分に鉄を抽出できず分解びん内に残留する例もあるので、分解びんを簡単に洗滌した場合には汚染の原因となる。しかし分解びんに熱王水処理を施すことにより汚染を防ぐことは十分可能である。

原子吸光法における鉄測定時のシリカの干渉については PLATTE ら<sup>15)</sup>によって負の干渉として認めら

れている。醸造用水中のシリカは  $\text{SiO}_2$  として 10~50 ppm 存在するので、この干渉はきわめて大きい。しかしわれわれは Table 5 に示したように正の干渉を認めた。この原因は鉄の測定波長 2483 Å に近い 2516 Å に Si の測定波長があることから考えて、両者が over up したか、使用したホローカソードランプの特性の差に由来するものと思われる。

比色法と原子吸光法（塩酸抽出法）を比較すると、Table 10 に示すようにたとえ DP 法で鉄不検出でも OPT 法および原子吸光法で鉄を検出することがある。また、原子吸光法と OPT 法は腐植質を 0.1% 添加した場合も影響が少ないが、DP 法は干渉をうける。これは測定に先だつ試料の前処理にかかる差と考えられる。すなわち、原子吸光法、OPT 法はいずれも塩酸性下濃縮を行ない、酸可溶性鉄を測定するが、DP 法では亜硫酸ソーダを還元剤として  $\text{Fe}^{3+}$  を  $\text{Fe}^{2+}$  とする操作のみのため、結合型の鉄が完全に遊離しないことによる。しかし、OPT 法においては塩酸処理を施さず hydroxylamine hydrochloride による還元のみを実施しても DP 法にみられるように鉄不検出ということとはなかった。

これは dipyriddy 系にあっては発色度が batho phenanthroline, 2,4,6-tri pyridyle-S-triazine > o-phenanthroline > 2,2',2''-ter pyridyl >  $\alpha, \alpha'$ -dipyridyl の順につよくなり<sup>29)</sup>、国税庁所定法に用いる  $\alpha, \alpha'$ -dipyridyl の発色度が JIS 法に用いられる o-phenanthroline よりも劣ることが原因と考えられる。

また、DP 法の呈色はシリカの妨害をうけるため、通常の用水では脱ケイ操作等シリカの干渉を封鎖しないかぎり他の分析法で得られる値よりも低い値で満足しなければならない。

さらに、加工水を用いて検討した結果から、磷酸を欠除した場合には DP 法の呈色は OPT 法の 41.6% にしか相当せず、他のイオンの影響を受けたことが明らかである。MASS ら<sup>30)</sup> は DP 法による鉄の測定にあたり、carbonate, nitrate, pyrophosphate, silicate 等の干渉を正リン酸の添加により防ぐことができると述べているが、われわれの結果はこれをうらづけたといえる。しかし、正リン酸を加えさらに pH を調整した系においても、得られた値が原子吸光法の 86.6% にとどまったことは先述したように発色度の問題および前処理の相違等他の要因によるところと考える。

以上を勘案すると、現行の国税庁所定法による全鉄の測定法ではイオン状ないし容易にイオン状となり得る鉄のみ定量される。しかも他のイオンの発色妨害を抑制するに十分な磷酸を含む用水にのみ有効といえる

が、通常、醸造用水では  $\text{P}_2\text{O}_5^{3-}$  として平均 0.4 ppm (範囲 2.0~0.0 ppm) 程度であり、発色妨害は抑制できない。高瀬<sup>31)</sup> は所定法と加熱発色法およびマンガン共沈法<sup>32)</sup> を比較検討し、所定法により鉄不検出の水なら醸造用水として使用できるという保証を与える点で意味があると述べている。しかし今回の結果からは逆に、たとえ微量でも所定法で鉄を検出した水はさらに他の分析法を用いて全鉄量の確認を行なう必要があるといえよう。すなわち、所定法により鉄不検出ということは醸造用水として必要条件であるが、十分条件としては満足できないことが明らかである。

終りに腐植試料の調整にあたり御助言賜りました農林省農業技術研究所井之子昭夫博士に深謝いたします。(本報告の要旨は昭和44年日本醸酵工学会大会において発表した)

## 要 約

- 1) 原子吸光分光分析法の清酒醸造用水への適用条件を検討したところ、APDC-MIBK 抽出法は再現性、回収率、標準添加法のいずれからも良好であった。APDC 添加前の pH の調整には、一定量の酢酸ソーダを添加することとした。
- 2) 簡便法として設定した HCl 抽出法は多量の沈澱あるいは結晶を形成するものを除き、10%の誤差範囲内で醸造用水への適用が可能であった。
- 3) 国税庁所定法記載の  $\alpha, \alpha'$ -dipyridyl (DP) 法、工業用水試験方法記載の o-phenanthroline (OPT) 法および原子吸光法により醸造用水中の鉄定量値を比較したところ、OPT 法と原子吸光法は近似した値を与えたが、DP 法はかなり低い値を示した。この原因には DP 法の前処理、発色度、他のイオンの影響などが関与している。

## 文 献

- 1) TADENUMA, M., SATO, S.: *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 1438 (1967).
- 2) 大阪国税局鑑定官室：昭和45年度市販清酒成分調査書 (1970).
- 3) 鈴木, 田中, 能勢：醸協, **32**, J23 (1937).
- 4) 武藤, 佐藤：醸協, **55**, 296 (1960).
- 5) 澄川, 戸塚, 難波, 小武山：投稿中。
- 6) 垣浦：灘酒研究会報, **19**, 57 (1958).
- 7) OTOZAI, K., MIZUMOTO, K.: *Mikrochim. Acta* [Wien], **12**, 217 (1961).
- 8) 高瀬, 佐原, 田丸, 坂本, 河野, 菅原：醸協, **58**, 1086 (1963).
- 9) 国税庁所定分析法201-10 (1965).
- 10) 工場廃水試験方法 (JIS K-0102) 47.2 (1964).

- 11) A.P.H.A.: *Standard Methods for the Examination of water and Sewage* 9ed. (1946).
- 12) 工業用水試験方法 (JIS K-0101) 49.1 (1966).
- 13) *ibid* 49.2 (1966).
- 14) FISHMAN, M. J.: *Atomic Absorption News letter*, **5**, 102 (1966).
- 15) PLATTA, J. A., MARCY, V. M.: *ibid* **4**, 289 (1965).
- 16) FREY, S. W.: *ibid*, **3**, 127 (1964).
- 17) ALLAN, J. E.: *Spectro Chem. Acta*, **17**, 461 (1961).
- 18) 厚谷: 日化誌, **86**, 1145 (1965).
- 19) MALISSA, H., SCHOFFMANN, E.: *Mikrochim. Acta*, **1**, 187 (1955).
- 20) 進藤, 森藤: 化学の領域, **21**, 206 (1967).
- 21) W. SALVIN (下村他訳): 原子吸光分析 (広川書店) (1970).
- 22) 武内, 鈴木: 原子吸光分光分析法 (南江堂) (1970).
- 23) Wilson, A. L.: *Analyst*, **89**, 389 (1964).
- 24) 高木, 熊井: 分析化学, **16**, 958 (1967).
- 25) SLOOKEY, L. L.: *Anal. Chem.*, **42**, 779 (1970).
- 26) 大蔵: 用水と廃水, **1**, (9), 47 (1959).
- 27) CURTIS, K. E.: *Analyst*, **94**, 1068 (1969).
- 28) MANSELL, R. E.: *Atomic Absorption News letter*, **4**, 276 (1965).
- 29) 松原: *Dotite News Letter* **14** (2), 2 (1966).
- 30) M. L. Moss, M. G. Mellon: *Ind. Eng. Chem.*, **14**, 862 (1942).
- 31) 金井, 小穴, 有松: 醸協, **27**, (2), 5 (1932).
- 32) 日本薬学会編: 衛生試験法注解 p. 697 (金原出版) (1965).
- 33) 恒浦: 醸造論文集, **15**, 1 (1960).
- 34) 松本, 常松, 白石: 分析化学, **17**, 703 (1968).
- 35) DAVID, D. J.: *Analyst*, **83**, 655 (1985).
- 36) Gidley, J. A. F., Jones, J. T.: *ibid*, **85**, 249 (1960).
- 37) 戸塚, 澄川, 荻野, 難波, 小武山: 昭和45年度日本農芸化学会大会講演 (1970).

(昭 46.1.25 受付)