

飼料中マグネシウム、カリウム、カルシウム含量の迅速測定法

1. 希塩酸抽出法による分析試料の前処理

西口靖彦・安藤 貞・早坂貴代史*・池田順一**・堀 兼明***・須賀有子***・
福永亜矢子***

Key words : feedstuff, magnesium, potassium, calcium, analysis, hydrochloric acid extraction

目 次

I 緒 言	133	4 ミネラル定量	134
II 材料および方法	134	III 結果および考察	135
1 供試試料	134	IV 摘 要	137
2 希塩酸抽出条件の検討	134	引用文献	137
3 乾式灰化法による分析試料調製	134	Summary	139

I 緒 言

マグネシウム (Mg) とカルシウム (Ca) は乳肉用牛で不足しやすい必須ミネラルであり、これらの欠乏により疾病の発生や乳肉生産性の低下を引き起こす。一方、必須ミネラルであるカリウム (K) は植物体に多量に含まれるため、欠乏症状はほとんど発生しない。しかし、過剰のK摂取は、腸管での Mg と Ca の吸収を阻害する。従って、飼料中の Mg, K, Ca 含量を把握し、そのバランスの適正化が重要である⁶⁾。

「飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律」⁹⁾ および関係法令¹⁰⁾ では、飼料中のミネラル含量測定の前処理法として、供試試料の前処理法として一部の飼料の場合を除き、乾式灰化法による試料調製が指示されている。しかし、同法は、1) 500~600℃の電気炉内で数時間~数十時間の加熱が必要であること、2) 元素によっては、高温下で飛散

や不溶化物の形成や、容器や炭化物への吸着により、低値となる可能性があること、3) 炉内での汚染や異物の混入、あるいは、磁性るつぼやガラス器具からの元素の溶出により、高値となる可能性があること、等が問題点として指摘されている^{7, 20)}。

一方、希塩酸抽出法は、分析試料に1~3%塩酸を添加して振とうするだけで、Mg, K, Ca を含む多くの元素が抽出され、損失や混入のおそれが少ない等、操作が容易で精度が高い^{11, 12, 13)}。この方法は、「四訂食品成分表」²⁾以降の食品中ナトリウムおよびK測定の前処理法として、乾物1~2g相当に対し200mlの1%塩酸を添加して、室温で30分間振とうする方法が採用された²⁰⁾。飼料分析の公定法としては、「プレミックス」中の Mg 定量の前処理法に、希塩酸抽出法が適用されている^{4, 8, 14)}。しかし、希塩酸抽出法が、「プレミックス」以外の飼料中の Mg, K, Ca 定量のための前処理法として適用可能であるか、十分な検討はされていない。この方法が乾式灰化法に代替できれば前処理の迅速

(平成18年9月14日受付, 平成18年11月1日受理)

粗飼料多給型高品質牛肉研究チーム

*現畜産草地研究所

**産学官連携推進センター推進リーダー

***環境保全型野菜研究チーム

化、簡便化と高精度化が期待される。

希塩酸抽出法による食品のミネラル定量には、一般的に湿潤状態（原物）で「すりおろし」「細切断」等の処理をした試料が供試される²⁰⁾。そのため、風乾粉碎処理試料への希塩酸抽出法の、適用の可否は不明である。

そこで本研究では、風乾粉碎処理を行った濃厚飼料原料、粗飼料並びに食品工業副産物等を対象に、Mg, K, Ca 含量測定の前処理法として1%希塩酸による抽出条件、および本法による乾式灰化法の代替の可否を検討した。

II 材料および方法

1 供試試料

試験試料は、広く乳肉用牛飼料として用いられている濃厚飼料ならびに食品工業副産物11種（トウモロコシ、大麦、モミ米、大豆粕、フスマ、米ヌカ、トウフ粕、ビール粕、酒粕、大豆皮、パン酵母）と、粗飼料13種（イタリアンライグラス、チモシー、トールフェスク、スーダングラス、混播牧草、エンバク、バミューダグラス、アルファルファ、稲ワラ、ソルガムサイレージ、コーンサイレージ、イヌビエ、ノシバ）の、合計24種72標品を用いた。このうち、モミ米、米ヌカ、トウフ粕及び稲ワラの4種は島根県大田市近郊で入手したもの、コーンサイレージは大田市近郊の酪農家が調製したもの、イタリアンライグラス、トールフェスク、混播牧草、ソルガムサイレージ、イヌビエ、ノシバの6種は当センター内で栽培調製したものであった。他の13種は、流通飼料を用いた。これらは、通風乾燥機で60℃48時間乾燥させた。風乾物は、ウィレー式粉碎機（WT-150、三喜製作所、東京）で2mmふるいを通過するまで粉碎した後、さらに遠心式粉碎機（ZM-1、Retsch、ドイツ）で1mmふるいを通過するまで粉碎し、供試試料とした。

乾物率は、風乾物を135℃2時間加熱法により測定した。

2 希塩酸抽出条件の検討

抽出時の温度と時間の検討は、イタリアンライグラス乾草、コーンサイレージ、アルファルファ乾草、

大豆粕、トウモロコシを対象飼料として実施した。乾物として約1g相当の供試試料を、100ml容ポリプロピレン製ボトルに取り、1% (w/w) 塩酸50mlを加えた。抽出温度は20℃または50℃とし、抽出時間を15、30、60分間として毎分125ストロークで振とう抽出した。抽出液はJIS 5種Aろ紙（アドバンテック、東京）を通して前処理溶液とした。

3 乾式灰化法による分析試料調製

乾物約1g相当の供試試料を、白金皿の代用品であるアルミはくカップ^{18, 19)}に取り、電熱器上で予備灰化後に550℃で8時間灰化した。炭化物が認められた場合には、少量の蒸留水で湿して、再加熱処理を実施した。灰化残さは、1%塩酸溶液で100ml容トールビーカに移し、ホットプレート上で加熱して湿式分解と乾固を行った。残さに1%塩酸溶液約20mlを加え、沸騰しない程度に加温して、残さを溶解させた。溶液はJIS 5種Aろ紙を通して50mlに定容した。希塩酸抽出条件の検討に用いた5種の飼料は、アルミはくカップ法による方法と、硬質ガラス製ビーカで灰化から残さ溶解まで連続して処理する方法との、2法で試料調製を行った。なお、ガラス製ビーカで灰化する場合は、灰化温度を500℃とした。

4 ミネラル定量

希塩酸抽出法及び乾式灰化法で処理した前処理溶液は、Mg 測定時は5ppm以下、Ca 測定時は50ppm以下となるように、1%塩酸（干渉抑制剤として0.2% (w/v) 量のストロンチウムを含有）を用いて希釈した。K測定時は50ppm以下となるように、ストロンチウム不含の1%塩酸で希釈した。各元素の標準液は、市販の1,000ppm原子吸光用元素標準液（和光純薬、大阪）を同様の方法で適宜希釈して作製した。これらについて、MgとCaはフレイム原子吸光分析計（Z-5000、日立製作所、東京）で、Kは炎光分析計（SEP-2、富士平工業、東京）で測定し、検量線法にて各元素濃度を求め、乾物中の含量（%）を算出した。

Ⅲ 結果および考察

第1表に5種の飼料を用い、各飼料6反復で抽出条件を検討した結果を示した。希塩酸抽出法は、20℃15分の振とう処理では各飼料のミネラル濃度の変動係数(CV%)は大きかったが、30分以上の処理で変動が小さくなった。抽出時の温度を50℃にすると15分で抽出され、変動係数もわずかに小さくなり、処理時間の短縮と精度向上効果が認められたが、加温等に要する労力・機器の準備等を勘案すると、加温の効果は小さかった。従って、抽出時間は20℃30分が適当であると考えられた。この条件は、試料重量と塩酸溶液との比率、抽出温度、抽出時間について、食品中のK定量時の抽出条件²⁰⁾とほぼ同一

であり、供試試料調製条件が異なる飼料においても、希塩酸抽出法は適応可能と推察された。

次に、飼料72標品について、20℃30分の希塩酸抽出法と乾式灰化法とで前処理溶液を調製し、Mg, K, Ca 含量測定結果の比較を、それぞれ第1～3図に示した。ただし、米ヌカはMg含量が乾物中約2%と、他の飼料と比較して著しく高いため、第1図には含めなかった。

一部の飼料については、希塩酸抽出法と乾式灰化法との測定値で差を認めたが、全体の傾向として2法による測定値はよく一致し、直線「 $y=x$ 」上に収束した。これらの2値を、「 $y=a+bx$ 」(ただし、 y =乾式灰化法で前処理したミネラル含量測定値、 x =希塩酸抽出法で前処理したミネラル含量測定値)

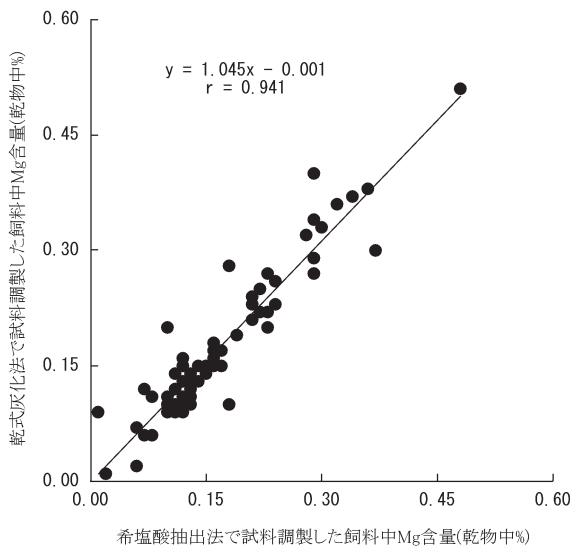
第1表 5種の飼料を用いて調査した、マグネシウム(Mg)・カリウム(K)・カルシウム(Ca)測定のための前処理方法の比較

元素	飼料名	前処理方法							
		1%希塩酸抽出法			50℃			灰化法	
		15分	30分	60分	15分	30分	60分	アルミカップ	ガラスビーカー
Mg	イタリアンライグラス乾草	0.13 ¹⁾ (0.92) ²⁾	0.12 (0.34)	0.12 (0.83)	0.13 (1.79)	0.13 (1.25)	0.13 (0.52)	0.12 (1.00)	0.12 (0.66)
	トウモロコシサイレージ	0.10 (2.00)	0.10 (0.29)	0.10 (0.78)	0.10 (0.40)	0.10 (0.89)	0.10 (0.65)	0.09 (2.61)	0.09 (2.02)
	アルファルファ乾草	0.26 (1.03)	0.26 (1.95)	0.26 (1.51)	0.27 (0.50)	0.26 (1.47)	0.26 (0.66)	0.30 (2.10)	0.30 (1.41)
	大豆粕	0.31 (0.73)	0.31 (0.62)	0.31 (0.93)	0.31 (0.38)	0.31 (0.14)	0.31 (0.91)	0.29 (1.93)	0.30 (0.44)
	圧べんトウモロコシ	0.08 (3.15)	0.08 (0.42)	0.08 (0.54)	0.08 (1.73)	0.08 (3.10)	0.08 (2.10)	0.08 (2.22)	0.08 (1.47)
K	イタリアンライグラス乾草	2.41 (1.41)	2.46 (2.02)	2.37 (0.32)	2.47 (1.22)	2.47 (1.21)	2.40 (0.92)	2.09 (2.31)	2.00 (2.67)
	トウモロコシサイレージ	1.14 (5.88)	1.15 (3.41)	1.18 (9.72)	1.13 (6.79)	1.19 (4.84)	1.15 (0.77)	0.99 (3.54)	0.93 (6.97)
	アルファルファ乾草	2.52 (0.61)	2.57 (1.00)	2.47 (1.45)	2.42 (1.18)	2.46 (0.69)	2.46 (1.82)	2.42 (2.11)	2.14 (3.54)
	大豆粕	2.80 (1.90)	2.72 (1.33)	2.72 (1.82)	2.78 (2.90)	2.76 (2.77)	2.74 (2.33)	2.47 (1.79)	2.36 (2.08)
	圧べんトウモロコシ	0.27 (6.27)	0.24 (8.58)	0.24 (7.93)	0.27 (4.47)	0.26 (8.70)	0.25 (5.46)	0.25 (7.81)	0.23 (5.17)
Ca	イタリアンライグラス乾草	0.18 (1.38)	0.18 (0.76)	0.18 (1.00)	0.18 (2.11)	0.18 (2.57)	0.18 (0.67)	0.16 (0.63)	0.11 (6.25)
	トウモロコシサイレージ	0.16 (1.37)	0.17 (1.58)	0.17 (2.60)	0.17 (0.90)	0.17 (0.82)	0.17 (1.18)	0.16 (3.00)	0.10 (4.21)
	アルファルファ乾草	1.00 (9.42)	1.05 (7.87)	1.07 (1.91)	1.15 (1.72)	1.10 (2.04)	1.11 (1.08)	1.36 (5.01)	1.32 (6.72)
	大豆粕	0.38 (0.65)	0.37 (1.31)	0.39 (0.30)	0.39 (0.73)	0.40 (1.57)	0.40 (0.95)	0.38 (1.19)	0.27 (5.10)
	圧べんトウモロコシ	測定限界以下 ³⁾							

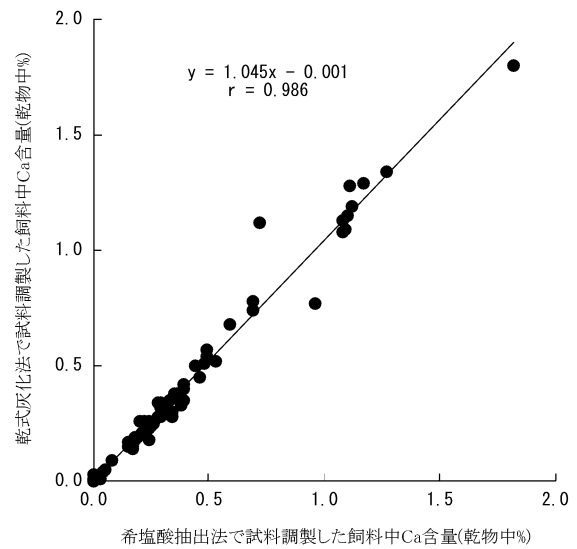
注1) 乾物中%

2) 変動係数(%), n = 6

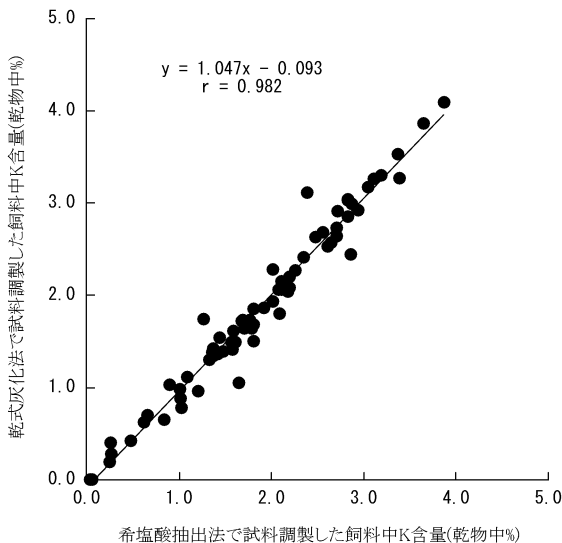
3) 乾物中0.01%未満



第1図 前処理方法として、乾式灰化法と希塩酸抽出法を適用した場合の、飼料中 Mg 含量値の比較



第3図 前処理方法として、乾式灰化法と希塩酸抽出法を適用した場合の、飼料中 Ca 含量値の比較



第2図 前処理方法として、乾式灰化法と希塩酸抽出法を適用した場合の、飼料中 K 含量値の比較

の一次回帰式と見なし、各係数を解析したところ、Mg が $y = -0.001 + 1.045x$ ($r^2 = 0.885$), K が $y = -0.001 + 1.045x$ ($r^2 = 0.978$), Ca が $y = -0.093 + 1.047x$ ($r^2 = 0.964$) が得られた。供試飼料72標品 (Mg は米ヌカを除く71標品) で分析した各ミネラル含量の、乾式灰化法測定値に対する希塩酸抽出法測定値の比率は、Mg が $101.3 \pm 26.1\%$ (平均 \pm 標準偏差), K は平均 $102.9 \pm 17.7\%$ (平均 \pm 標準偏差), Ca は平均 $99.7 \pm 17.9\%$ (平均 \pm 標準偏差) であった。Mg 測定値は、2 元素より標準偏差が大

きくなったが、これは1) 米ヌカ以外の飼料は、乾物中0.5%以下の濃度域に集中したこと、2) 原子吸光分析計の感度が他の2元素より高く、分析試料の希釈が大きいための操作上の誤差が大きかったこと、の2点が影響すると思われた。

一般に、希塩酸抽出法は、乾式灰化法と比較してミネラル含量分析値が高値になる傾向があるとされている¹⁷⁾。この要因として、乾式灰化法では、1) 灰化容器等からの回収が不完全、2) 元素が飛散、3) 酸不溶性物質が形成、4) 残存する炭化物へ元素が吸着、等の点が挙げられる^{7, 16, 20)}。今回の抽出条件検討時において、アルファルファ乾草を除いて同様の傾向が認められた。その理由として、灰化温度が高すぎて元素の飛散が生じたこと、灰化残さの回収が不完全であったことが考えられた。そこで、灰化温度を500℃に下げ、かつ、同一のガラス容器を用いて灰化から湿式分解までを行う方法も試みた。しかし、これらの効果は認められず、アルミはく容器による550℃灰化法より低値となった。

乾式灰化にともなう元素の損失は、灰化温度や灰化容器に由来するだけでなく、試料の種類によって異なる。酸不溶性のケイ酸塩の生成は、試料にケイ素が多量に混在する場合に生成しやすく¹⁶⁾、容器等への吸着は、灰化残さが酸性を示す穀類等に発生しやすいとされる^{7, 20)}。

それに対し、希塩酸抽出法による前処理は、不溶

化物の形成や容器への付着による損失は最小限となるため、乾式灰化法の分析値と比較すれば高値を示しやすい。特に、Kは乾式灰化時に1) 500℃以上で元素の飛散を生じやすいこと、2) 残さがアルカリ性を示す葉類を、ガラスや磁性容器を用いて灰化した場合に、容器へのKの取り込みが発生すること⁵⁾、等によって、含量を過小評価する傾向にある。そのため、飼料分析基準⁸⁾では、白金皿を灰化容器として500℃以下の低温で灰化するよう指示されているが、白金皿は高価であり、500℃での灰化は長時間を要することから、実施は容易ではない。従って、希塩酸抽出法は、K測定のための前処理法として特に有用であると思われた。

その一方、希塩酸抽出法における元素の抽出率は、試料中の元素の状態によって影響される¹⁵⁾。そのため、乾式灰化法より低値となる場合もあり得る。これは、植物体内でのミネラル存在様式が、品種によって異なること、同一植物体であっても生育状況によって変動すること、等による⁷⁾。例えば、イオン状態であれば抽出されやすいが、構造性多糖類等と結合した場合は抽出されにくい。Kは、植物体内で大部分がイオン状態であるため、希塩酸によって抽出されやすい。しかし、Mg, Caは大部分が化合物として存在し、その一部は不動体となっていることがあるため、抽出率は低下しやすい⁷⁾。今回の試験では、希塩酸抽出法で測定したアルファルファ乾草中のMg, Ca含量は、乾式灰化法での値と比較して低値となったことから、アルファルファ乾草は今回の1%塩酸で20℃30分振とうでは不十分、もしくは、適用できないと推察された。

希塩酸抽出法と、乾式灰化法の、両測定結果(単位は乾物中%)が大きく異なった飼料として、フスマのMg含量(抽出:1.96 vs 灰化:0.86)、混播牧草のMg含量(抽出:0.10 vs 灰化:0.20)、エンバクのK含量(抽出:1.21 vs 灰化:0.96)、バミューダグラスのMg含量(抽出:0.18 vs 灰化:0.10)等があった。これらの飼料は、抽出条件を詳細に検討する必要がある。

本実験では、食品中ミネラル分析に用いられる1%希塩酸抽出法が、供試試料の前処理法が異なる飼料分析においても、Mg, K, Ca含量測定時の前処理法として適用できることが明らかとなった。希

塩酸抽出法は、乾式灰化法と比較して、1) 操作が簡便であること、2) 火災や火傷の危険性がないこと、3) 飛散や吸着、不溶性物質の形成等による元素の損失がほとんどないこと、4) 密封容器内で操作することから環境中からのミネラル混入が最小限に防止できること、等の利点がある。さらに、前処理に要する時間は概ね1時間以内と、乾式灰化法と比較して大幅な迅速化がなされた。これは、自給粗飼料や食品工業副産物等の、成分変動が大きく^{1, 3)}、保存性が乏しい飼料に対しては、特に有効であった。

しかし、一部の飼料では、乾式灰化法との測定値が一致しなかった。これらの飼料については要因を精査するとともに、多くの飼料に適用できる塩酸濃度・抽出時間・温度等を、最適化する必要がある。

IV 摘 要

飼料中のマグネシウム(Mg)、カリウム(K)、カルシウム(Ca)含量測定の前処理法として、希塩酸抽出法の適用と乾式灰化法との代替の可否を検討した。5種飼料(イタリアンライグラス乾草、コーンサイレージ、アルファルファ乾草、大豆粕及びトウモロコシ)の1mm粉碎物1gに1%(w/w)塩酸50mlを添加して、温度を20または50℃、時間を15~60分に設定して振とう(毎分125ストローク)抽出した。抽出液の各ミネラル濃度を原子吸光法(MgとCa)及び炎光法(K)で測定して乾式灰化法での値と比較した。その結果、3ミネラルとも20℃30分の振とうでほぼ抽出された。飼料72標品を希塩酸抽出法と乾式灰化法とで前処理した場合の、飼料中3ミネラル含量値はよく一致し、希塩酸抽出法は乾式灰化法の代替となり得る。

引用文献

- 1) 阿部 亮・吉田宣夫・今井明夫・山本英雄編, 2000. 未利用有機物資源の資料利用ハンドブック. 第1版. 43-45. サイエンスフォーラム. 東京.
- 2) 科学技術庁資源調査会編, 1982. 四訂日本食品標準成分表. 科学技術庁. 東京.
- 3) 近畿中国四国農業研究センター編, 2003. 中国

- 中山間地域を活かす里地の放牧利用－遊休農林地活用型肉用牛営農システムの手引き－. 独立行政法人農業技術研究機構近畿中国四国農業研究センター畜産草地部. 島根.
- 4) 伊藤清志 1985. プレミックス中の鉄, 銅, マンガン, 亜鉛及びマグネシウムの定量法. 飼料研究報告10: 166-173.
 - 5) 日本食品科学工学. 新・食品分析法編集委員会編, 1996. 新・食品分析法. 119-135. 光琳. 東京.
 - 6) 農林水産省農林水産技術会議事務局編, 1999. 日本飼養標準・乳牛. 1999年版 13-14. 農林水産省農林水産技術会議事務局. 東京.
 - 7) 作物分析法委員会編, 1983. 栄養診断のための栽培植物分析測定法. 第5版. 59-63. 養賢堂. 東京.
 - 8) 飼料分析基準研究会編, 1998. 飼料分析基準注解. 第3版. 31. (社)日本科学飼料協会. 東京.
 - 9) 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律. 1953. 昭和28年法律第35号. 農林水産省. 東京.
 - 10) 飼料の公定規格. 1994. 農林水産省告示第745号. 農林水産省. 東京.
 - 11) 鈴木忠直・安井明美・小泉英夫・堤 忠一 1987. 大豆, 枝豆およびきな粉中の金属元素の塩酸抽出－原子吸光法. 日本食品工業学会誌 34: 185-189.
 - 12) 鈴木忠直・安井明美・小泉英夫・堤 忠一 1990. 動物食品中の無機元素測定のための塩酸抽出法. 日本食品工業学会誌37: 547-553.
 - 13) 堤 忠一・小泉英夫・吉川誠次・森井ふじ・小林 純 1979. 塩酸溶液抽出後原子吸光分析による植物性食品中のナトリウムおよびカリウムの定量法. 食品総合研究所研究報告34: 132-140.
 - 14) 山口 峻・倉光良造 1987. 原子吸光光度計によるプレミックス中のコバルトの定量法. 飼料研究報告12: 1-11.
 - 15) 山崎耕宇・杉山達夫・高橋英一・茅野充男・但野利秋・麻生昇平 1993. 植物栄養・肥料学 79-83. 朝倉書店. 東京.
 - 16) 柳田博明編著, 1993. セラミックスの科学. 第2版. 丸善. 東京.
 - 17) 安井明美・小泉英夫・堤 忠一 1985. 穀類, 果樹葉および海菜類中の金属元素の原子吸光法による定量への塩酸抽出法の適用. 日本食品工業学会誌32: 226-233.
 - 18) 安井明美・小泉英夫・鈴木忠直・堤 忠一 1986. アルミニウムはく容器を用いる乾式灰化法. 分析化学35: T115-119.
 - 19) 安井明美・田中真澄 1988. アルミニウムはく容器を用いる乾式灰化法 (第2報). 食品総合研究所研究報告52: 60-61.
 - 20) 日本食品分析センター編, 2001. 分析実務者が書いた五訂日本食品標準成分表分析マニュアルの解説. 90-98. 中央法規. 東京.

Rapid analysis of magnesium, potassium and calcium contents in feedstuffs

1. The use of hydrochloric acid extraction procedure for mineral analysis in feedstuffs

Yasuhiko NISHIGUCHI, Sada ANDO, Kiyoshi HAYASAKA *, Jun-ichi IKEDA **, Kaneaki HORI***,
Yuko SUGA *** and Ayako FUKUNAGA ***

Key words : feedstuff, magnesium, potassium, calcium, analysis, hydrochloric acid extraction

Summary

In order to investigate an application of hydrochloric acid extraction procedure as an alternative procedure of dry-ashing, the concentration of magnesium (Mg), potassium (K) and calcium (Ca) in selected feedstuffs were compared. One gram of 1-mm ground samples (Italian ryegrass hay, corn silage, alfalfa hay, soybean meal, and corn flake) were added to 50m³ of 1% (w/w) HCl, and shaken (125 strokes/min) at 20 or 50 °C for 15 to 30 minutes using shaking machine. Mg and Ca contents were determined by atomic absorption spectrophotometry, and K was determined by flame spectrophotometry. These measured values were compared with those obtained through dry-ashing method. Each element was extracted at 20 °C for 30 minutes. The Mg, K and Ca percentages in 72 feedstuff samples showed the same value between extraction and ashing procedures.

Japanese Black Cow Production Research Team

*National Institute of Livestock and Grassland Science

**Collaboration Promoting Center, Director Promotion Leader

***Research Team for Sustainable Vegetable Production