

改良デュマ法分析装置におけるキャリアーガスの比較検討

丹戸 智博*, 室井 洋昭*, 竹元 賢治*, 野口 大*

Influence of helium and argon as carrier gases for the improved Dumas method analyzer

TANDO Tomohiro*, MUROI Hiroaki*, TAKEMOTO Kenji* and NOGUCHI Hiroshi*

*Tokyo Customs Laboratory 2-7-11 Aomi, Koto-ku, Tokyo, 135-8615 Japan

Customs uses the Kjeldahl method or the improved Dumas method for quantification of crude protein. Among these analytical methods, the improved Dumas method analyzer generally uses helium as a carrier gas, but in recent years obtaining helium has become difficult. A comparative study was conducted to determine if argon could be used as a carrier gas instead. When measurement results of use of argon and helium as carrier gases by the Dumas method were compared, a significant difference in quantitative nitrogen was not observed, and quantification of the sample for a usual analysis was not a problem. Therefore, whether argon could be used as carrier gas was considered. However, in cases where the measured value is close to the borderline of the tariff classification, measurement using helium gas should be carefully considered.

1. 緒 言

税関分析法において、粗たんぱく質の定量は重要な分析試験項目の一つである。粗たんぱく質は、試料に含まれる全窒素量に品目に応じた換算係数を乗じて算出する¹⁾。また、米粉とでん粉誘導体からなる調製品は、全窒素量から米粉含有量を算出する²⁾。さらに、ペプトンか否かを判断するためには、全窒素量に対するアミノ態窒素量の割合を求める必要がある³⁾。このように、全窒素量及びそれから算出される粗たんぱく質量の定量は、食品や農産品にかかる関税分類の決定において重要である。

現在、税関分析法「粗たんぱく質の定量分析法」⁴⁾において、試料に含まれる粗たんぱく質の定量は、ケルダール法又は燃焼法(改良デュマ法)を基とした自動窒素測定装置(以下、改良デュマ法分析装置とする)によるものと規定されている。改良デュマ法は、試料を高温で燃焼・還元し、発生した窒素ガスから窒素量を定量するため、一検体当たりの分析時間が約5分と迅速で、かつ強酸及び強アルカリを使用しない分析法である。

改良デュマ法分析装置では、一般的にキャリアーガスとしてヘリウムを使用しているが、近年、ヘリウムの不足や国際情勢等の影響により、ヘリウムの入手が困難かつ価格も高騰している状況であり、今後、ヘリウムが入手できなくなった際、分析を行うことが不可能となる。一方、改良デュマ法分析装置において、ヘリウムの代替となるキャリアーガスとして、アルゴンに対応した装置が販売されるようになった。

本研究では、粗たんぱく質量によって関税分類が異なる様々な食品について、キャリアーガスをヘリウムからアルゴンに変更した際、定量値に有意差が認められるか確認し、改良デュマ法分析

装置のキャリアーガスとしてアルゴンが使用可能か検討した。

2. 実 験

2.1 試料及び試薬

2.1.1 試料

大豆たんぱく質(和光純薬)、ミルクアルブミン(東京化成工業)、小麦グルテン(和光純薬)、ペプトン(極東製薬工業)、ホエイたんぱく質(輸入品)、原料米粉(輸入品)、大豆たんぱく濃縮物3種(輸入品)、ミルクたんぱく質3種(輸入品)、米粉調製品3種(輸入品)

2.1.2 試薬等

スズ箔、燃焼管、還元銅(いずれも Gerhardt 社)、エチレンジアミン四酢酸ナトリウム(以下、EDTA と略記する)、L-リジン塩酸塩(いずれも和光純薬工業)

2.2 分析装置及び条件

装置	: Dumatherm (Gerhardt 社)
キャリアーガス	: 高純度アルゴン (99.9999 %以上), 高純度ヘリウム (99.9999 %以上)
燃焼ガス	: 高純度酸素 (99.999 %以上)
燃焼管温度	: 980 °C
還元管温度	: 650 °C
二酸化炭素吸着管温度	: 300 °C
キャリアーガス流量	: 200 sccm (cc/min 1 気圧)
燃焼時の酸素量	: 200 sccm (cc/min 1 気圧)

* 東京税関業務部 〒135-8615 東京都江東区青海 2-7-11

2.3 実験方法

2.3.1 改良デュマ法による全窒素分の定量

改良デュマ法において、測定は試料をスズ箔に約 100 mg 採取して行い、窒素量の算出は EDTA を用いて作成した検量線を使用した。検量線は、熱伝導検出器 (TCD) で検出された窒素ガスのピーク面積に対する EDTA の重量をプロットし、窒素量として約 0.3 mg - 30 mg の範囲で一次式 (8 点検量) を作成した。作成した検量線は、決定係数が 0.9999 以上の精度が確認できたものを使用した。これまでの報告^{4,5)}と同様に、作成した検量線を基とし、装置を起動させた際に、EDTA (試料量 80 mg - 120 mg) を 3 検体定量し、その窒素量の平均値が EDTA の真の窒素量 (9.57 %) となるように検量線の傾きに係数を乗じ、補正した検量線により窒素量を算出した。試料の測定は窒素回収率を確認する標準試料として難燃性のアミノ酸である L-リジン塩酸塩 (試料量 80 mg - 120 mg) を使用し、全窒素分の回収率が 98 - 102 % となることを確認した後に、試料の窒素分定量を行った。測定はそれぞれ連続 5 回行い、その平均を測定値とした。試料採取量は、本研究では 100 mg で行った。

2.3.2 試料採取量による窒素定量値の比較

改良デュマ法において、EDTA を試料として、窒素量が 1.0 mg, 0.5 mg, 0.1 mg となるように採取をした。それぞれの採取量において、キャリアーガスをアルゴンにした場合と、ヘリウムにした場合とで測定を行った。

2.3.3 米粉調製品による定量性の確認

原料米粉を用いて、米粉の含有量が 80 % になるように試料を作成し、キャリアーガスをアルゴンとヘリウムにしてそれぞれ測定を行い、輸入貨物の分析で想定される試料において、アルゴンガスを使用しても、ヘリウムガスを使用した場合と比べ、遜色無い定量結果が得られるかを確認した。

3.2 様々な窒素定量値

3.2.1 標準試薬による様々な窒素定量値の測定結果

EDTA を試料として、窒素量がそれぞれ 1.0 mg, 0.5 mg, 0.1 mg となるように採取をして、改良デュマ法により測定した結果について、全窒素量を Table 2 に、信号出力を Fig.1 - Fig.6 に示す。窒素量が 1 mg, 0.5 mg の測定では、キャリアーガスをアルゴンにした場合とヘリウムにした場合それぞれで、対称性のよいピークが得られ、定量値も正確な値が得られた。しかし、窒素量が 0.1 mg の測定では、キャリアーガスをヘリウムにした場合は対称性のよいピークが得られ、定量値も正確な値が得られたが、キャリアーガスをアルゴンにした場合では、ノイズの影響が大きく、対称性のよいピークが得られず、定量値も正確な値は得られなかった。これは、改良デュマ法分析装置の検出器が、熱伝導率の差を検出しているものであり、熱伝導率の差は、ヘリウムと窒素よりも、アルゴンと窒素の方が小さいことから⁹⁾、キャリアーガスをアルゴンとした場合、シグナルに対するノイズの影響が大きくなるため、窒素量が少ない試料では正確な定量値が得られなかったと考えられる。

3.2.2 米粉調製品における全窒素量の定量性

改良デュマ法により定量した原料米粉と、米粉の含有率が約 80 % の米粉調製品の全窒素分、相対標準偏差及び米粉含有量による全窒素分の理論値についての結果を Table 3 に示す。試料の測定値と米粉含有率による理論値の差を算出したところ、キャリアーガスがアルゴンの場合では、0.014 - 0.060 %, ヘリウムの場合では、0.002 - 0.042 % となった。この試料については、通常分析依頼で想定される試料で最も窒素量が低いと考えられる試料である。今回の結果から、輸入貨物の分析においては、キャリアーガスをアルゴンとして分析した際の定量性には問題がないと考えられる。

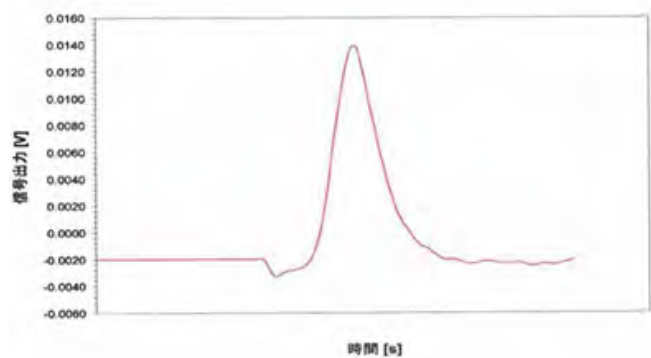
4. 要 約

3. 結果及び考察

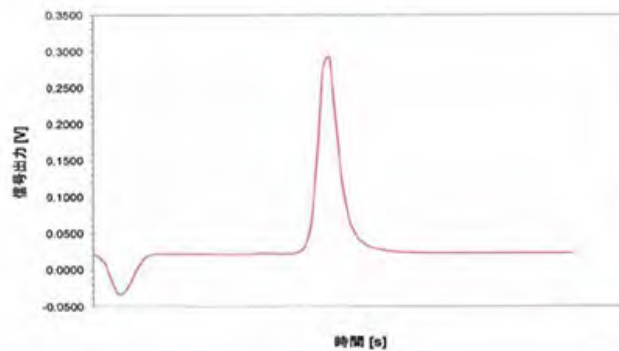
3.1 全窒素量の測定結果

改良デュマ法により定量した分析試料について、定量した全窒素分の平均値及び粗たんぱく質の量に対するキャリアーガスがアルゴンの場合とヘリウムの場合の全窒素量値の差についての結果を Table 1 に示す。粗たんぱく質の量に対するキャリアーガスがアルゴンの場合とヘリウムの場合の全窒素量値の差は、ミルクたんぱく質 3 種及び米粉調製品 3 種以外で 9.252×10^{-5} - 5.205×10^{-3} % とほぼ差がなかった。一方、ミルクたんぱく質においては 0.326 - 0.327 %, 米粉調製品では 0.802 - 0.810 % と差がみられた。また、粗タンパク質の定量値の差は、0.012 - 1.621 % となり、試料により異なる結果となった。これらの結果から、改良デュマ法のキャリアーガスにアルゴンを使用した場合について、ヘリウムにした場合の粗たんぱく質の量に対する全窒素量値の差は、有意差がある試料もあるため、特にたんぱく含有量が関税分類の境界値付近の値となった場合には慎重に検討する必要がある。

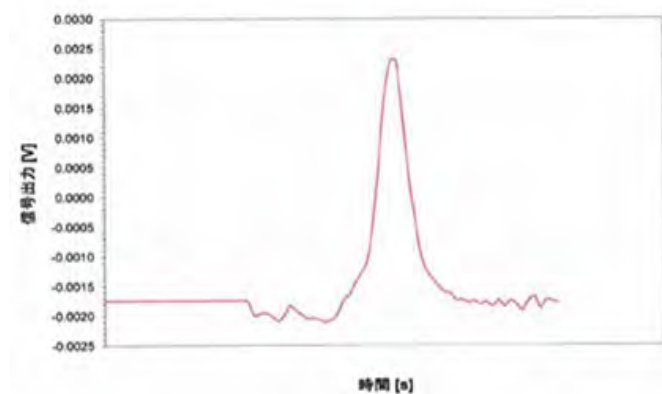
全窒素分を定量するために使用される改良デュマ法分析装置において、キャリアーガスにアルゴンを使用した場合と、ヘリウムを使用した場合の窒素定量値の比較を行った。輸入貨物の分析で想定される試料において、それぞれのキャリアーガスで測定した場合の窒素量の定量値の差はあまり大きくなかった。また、キャリアーガスにアルゴンを使用した場合は、窒素量が 0.1 mg の試料では、正確な定量値は得られなかったが、窒素含有率が少ない米粉含有率 80 % の米粉調製品では、キャリアーガスにヘリウムを使用した場合と同等な値が得られた。以上の結果から、改良デュマ法分析装置のキャリアーガスとしてアルゴンを使用することは可能であると考えられるが、関税分類の境界値近辺の測定値となった場合には、ヘリウムガスによる測定も視野に慎重に検討する必要がある。



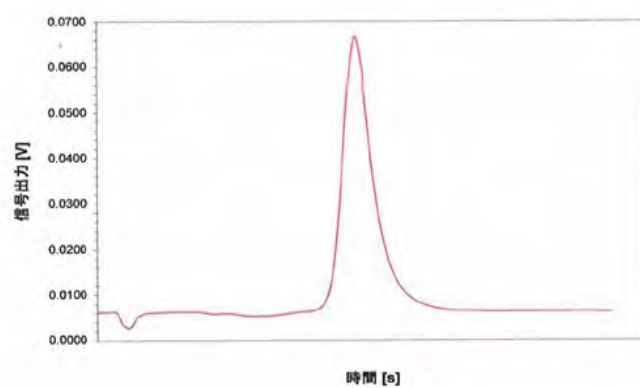
(A) Carrier gas: Ar, Total nitrogen; 1.0 mg



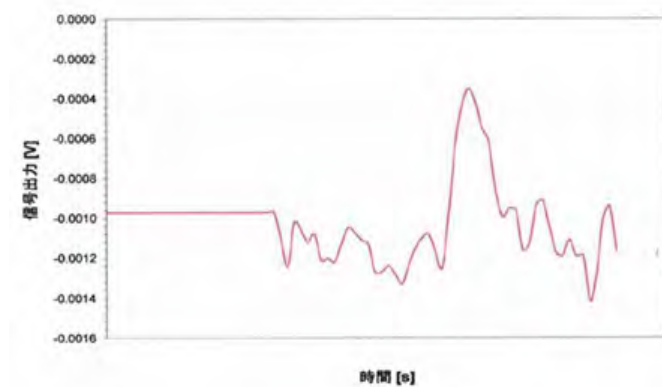
(D) Carrier gas: He, Total nitrogen; 1.0 mg



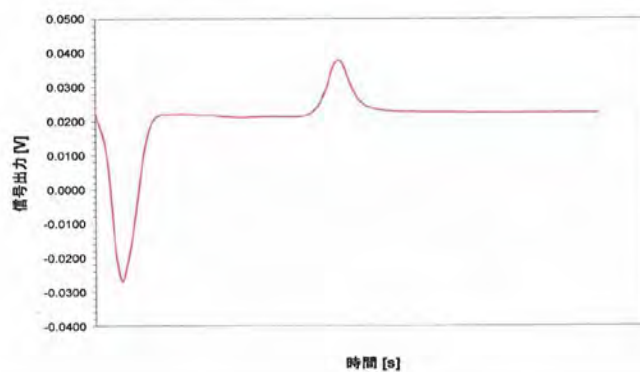
(B) Carrier gas: Ar, Total nitrogen; 0.5 mg



(E) Carrier gas: He, Total nitrogen; 0.5 mg



(C) Carrier gas: Ar, Total nitrogen; 0.1 mg



(F) Carrier gas: He, Total nitrogen; 0.1 mg

Fig.1 Measurement results by modified Dumas method analyzer. Carrier gas and total nitrogen are:

(A) Ar, 1.0 mg; (B) Ar, 0.5 mg; (C) Ar, 0.1 mg; (D) He, 1.0 mg; (E) He, 0.5 mg; (F) He, 0.1 mg.

Table 1 Comparison of measurements with Argon and Helium as a carrier gas for the improved Dumas method

Sample name	Carrier gas	Total nitrogen		Total crude protein	Difference of total crude protein (%)	Difference of total nitrogen /Crude protein (%)
		Mean (%)	RSD (%) ^(a)	Mean (%)		
Soy protein	Ar	8.874	2.00	55.464	1.194	3.702×10 ⁻⁴
	He	8.683	0.71	54.270		
Milk albumin	Ar	12.800	1.57	81.662	0.539	5.633×10 ⁻⁴
	He	12.715	0.51	81.123		
Gluten wheat	Ar	12.491	0.71	78.069	1.621	1.438×10 ⁻⁴
	He	12.232	0.28	76.448		
Peptone	Ar	12.589	1.73	78.682	0.888	7.725×10 ⁻⁵
	He	12.447	0.41	77.794		
Whey protein	Ar	11.961	1.14	76.310	0.679	2.608×10 ⁻⁵
	He	11.854	0.46	75.631		
Rice flour	Ar	1.191	0.91	7.088	0.306	5.205×10 ⁻³
	He	1.140	0.10	6.782		
Soy protein concentrate 1	Ar	13.897	0.93	86.855	0.082	9.252×10 ⁻⁵
	He	13.884	1.08	86.773		
Soy protein concentrate 2	Ar	13.952	1.63	87.202	0.356	3.560×10 ⁻⁴
	He	13.895	0.81	86.846		
Soy protein concentrate 3	Ar	13.938	0.70	87.113	0.682	3.367×10 ⁻⁴
	He	13.829	1.87	86.431		
Milk protein 1	Ar	11.927	1.58	76.094	-0.646	0.327
	He	12.028	1.08	76.740		
Milk protein 2	Ar	11.963	1.12	76.324	0.046	0.326
	He	11.956	0.80	76.278		
Milk protein 3	Ar	11.898	2.57	75.909	-0.839	0.326
	He	12.029	0.97	76.748		
Rice flour preparation 1	Ar	0.880	0.53	5.238	0.070	0.802
	He	0.869	0.05	5.168		
Rice flour preparation 2	Ar	0.874	0.29	5.200	0.027	0.809
	He	0.869	0.07	5.173		
Rice flour preparation 3	Ar	0.862	0.34	5.130	-0.012	0.810
	He	0.864	0.05	5.142		

^(a) RSD: standard deviation / average

Table 2 Quantitative results of the Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)

Carrier gas	Total weight (mg)	Total nitrogen (%)	
		Theoretical value	Actual value
Ar	99.4	1.140	1.112
	99.3	0.570	0.560
	100.2	0.121	0.008
He	104.5	1.145	1.130
	104.1	0.489	0.447
	116.0	0.090	0.078

Table 3 Quantitative results of the rice flour preparation

Carrier gas	Raw material for rice flour			Rice flour content	Total nitrogen		
	Actual value (%)	Mean (%)	RSD (%) ^(a)		Actual value (%)	RSD (%) ^(a)	Theoretical value (%) ^(b)
Ar	1.196	1.144	0.63	77.2	0.854	0.18	0.883
	1.120			81.2	0.869		0.929
	1.165			78.3	0.866		0.896
	1.126			78.0	0.878		0.892
	1.113			78.6	0.879		0.899
He	1.225	1.139	0.90	79.3	0.861	0.37	0.903
	1.101			75.8	0.861		0.863
	1.107			76.4	0.876		0.870
	1.129			75.2	0.863		0.857
	1.131			79.6	0.909		0.907

^(a) RSD: standard deviation / average

^(b) Calculation method for the theoretical value: Nitrogen content is measured with the improved Dumas method. Approx. 80 mg of rice flour is weighed and a starch derivative is added for a total weight of approx. 100 mg. Content ratio of rice flour is obtained from the weighed value, and the theoretical value is obtained by multiplying the measured nitrogen content of the rice flour raw material by the content ratio.

文 献

- 1) 関税中央分析所ホームページ：税関分析法「粗たんぱく質の定量分析法」
(https://www.customs.go.jp/ccl_search/analysis_search/a_105_j.pdf)
- 2) 関税中央分析所ホームページ：税関分析法「米粉とでん粉誘導体調製品中の米粉の定量分析法」
(https://www.customs.go.jp/ccl_search/analysis_search/a_121_j.pdf)

- 3) 岩下伸行, 片山貴之, 赤崎哲也, 朝長洋祐: 関税中央分析所報, **45**, 49 (2005).
- 4) 長谷川美来, 津田美穂, 小林正和, 八木潤, 中山清貴: 関税中央分析所報, **56**, 31(2016)
- 5) 村岡幸恵, 五十嵐智大, 小林正和, 八木潤, 片山貴之: 関税中央分析所報, **57**, 23(2017)
- 6) 熱学技術ホームページ: 技術資料「気体の熱伝導率」(https://www.netugakugijutu.com/tech/tc_gas)