

リンゴ樹体各部のマンガ定量方法について

長井晃四郎・泉谷文足・桜田 哲  
(青森県りんご試験場)

Notes on manganese determination in apple tree tissues

KOUSHIRO NAGAI, AYATARI IZUMIYA and SATOSHI SAKURADA  
(Aomori Apple Experiment Station)

## I 結 言

リンゴ樹体各部の試料、特に多数のリンゴ葉試料のMn含量を定量する必要にせまられ、主として試料の灰化方法を中心にしてこの定量方法を検討した。

従来葉分析に用いられていた分析<sup>10)</sup>方法は、これをMnの分析に適用すると著しく再現性に乏しく、しかも、しばしば予想される値よりも明らかに低い結果を示す例が多く、これは比色の方法によるよりは灰化方法に問題が

あると推察された。

1963年以降これらの点を検討し、また、過よう素酸法による発色方法についても二、三検討を加えたのでその概略を報告する。

本実験の一部は栄養肥料科、清藤盛正、一木茂両技師および鎌田長一技師補のご助力によるところが大きい。深謝の意を表する。

## II 材料および方法

### 1. 供試試料

リンゴ樹体各部の試料は、他の研究目的のために常法にしたがって調製し、試料瓶に貯蔵してあるものを利用した。必要に応じてこれら貯蔵試料の一部をぬきとって混合し、再粉碎して使用した。水稻莖葉部試料は、青森県農業試験場、施肥改善科のご好意により同科の試料数点を利用させていただいた。

### 2. 装 置

比色に使用した分光光度計は、Hilger and Watts社製 Uvispek 型で、特記しない場合は波長 525m $\mu$ で光路長10mm、または20mmの吸収セルを使用した。スリット幅は 0.1mm (525m $\mu$ における波長幅は約 2A) にセットした。

### 3. 灰化および分解の方法

灰化方法の検討のため比較に用いた試料処理の方法は次のとおりである。

常法により磁製ルツボにとった乾燥試料(1g)を電気炉中で灰化した。所要温度(特記しない場合は 550°C)まで上げるのに 2 hrs, その温度に 2 hrs 保持し、冷却後水約 2 ml と HNO<sub>3</sub> (1+1) 2 ml を加え、沸騰湯浴上で約 10 分間加熱し、熱水でメスフラスコに濾過し、熱水で濾紙および器具を洗い、冷却後定容とした。この試料溶液 1 定量をとって後述の比色操作を行ない Mn 含量を測定した。また、珪酸分離および珪酸除去は高橋の方法によって行なった。

<sup>5)</sup> 湿式分解は JACSON の方法に基づき後述のように行なった。

## III 実験結果および考察

### 1. 灰化および分解方法の検討

#### (1) 乾式および湿式法の比較

リンゴ葉身部、木部および水稻莖葉部を供試し、前述の方法による乾式灰化と湿式分解法を比較した結果を第 1 表に示した。

Mn の添加は、MnSO<sub>4</sub> 溶液から Mn として 300 $\mu$ g 相当量を取り、乾式の場合には蒸発乾く後灰化し、湿式ではそのまま分解剤を加え分解した。

第 1 表 乾式および湿式灰化による Mn 分析値

試 料	乾式	湿式	比*
リンゴ葉身部	155ppm	167ppm	93
〃 〃 木部	8	15	53
水稻莖葉	201	373	54
リンゴ葉身+Mn 300 $\mu$ g	360	458	79
〃 〃 木部+	158	318	50
水稻莖葉+	303	662	46
MnSO <sub>4</sub> (Mn300 $\mu$ g)	288	308	93

3 反復平均値

\* 湿式法による値を 100 とした場合の乾式法の指数

乾式灰化による分析値はどの試料でも湿式法より低い値を示し、低下の程度は試料の種類によって著しく異なり、水稻およびリンゴ木部の低下が激しかった。Mnを添加しMn量を高くしたものは添加しないものより激しい低下を示す傾向がみられた。また、MnSO<sub>4</sub>を加熱したのも乾式法ではやや低い値を示した。

灰化にあたり、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>、ペプトン、クエン酸および濾紙を添加した場合、1度灰化したリンゴ葉灰分にMnSO<sub>4</sub>を加えて再び加熱を行なった例を第2表に示した。供試試料は第1表に使用したものと同一である。

第2表 各種添加物共存の影響

試料	乾式法による分析値	比*
リンゴ葉身+Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (1)	105ppm	63
〃 + 〃 + Mn(2)	213	46
リンゴ葉身灰分+Mn(2)→再灰化	257	56
Mn(2)+ペプトン(3)	300	97
〃 + クエン酸(3)	243	81
〃 + 濾紙(3)	207	69

## 3 反復平均値

\* 湿式法による値を100とした場合の指数

- (1) 葉身1gあたり5%溶液10mlを加え蒸発後灰化
- (2) Mnとして300μgをMnSO<sub>4</sub>で添加
- (3) 濾紙(東洋濾紙No.6)は細切し、その他は水溶液として加え蒸発後灰化した。添加量はいずれも1gである。

葉身の灰分にMnを加え再び加熱しても、Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>を添加してもいずれも著しく低い値を示した。MnSO<sub>4</sub>に添加したものは濾紙による低下が最も激しく、ペプトンはほとんど低下を示さなかった。

次に、各種試料について灰化温度を変えて分析値の変動をみた結果を第3表および第4表に示した。

温度を上げると分析値は低くなり、580°Cまたは650°Cではこの傾向が著しかった。また、Mn含量が高いほど低下の割合ははなはだしい傾向がみられる。

このような乾式灰化による分析値の変動は、灰化法そ

第3表 灰化温度の影響

試料	灰化温度(°C)*		
	450	550	650
リンゴ葉身	164ppm	155ppm	94ppm
水稻茎葉	328	274	112
リンゴ葉身+Mn**	461	465	146
水稻茎葉+Mn**	564	555	356
MnSO <sub>4</sub> **	294	302	238

## 4 反復の平均値

\* この温度に4hrs保った

\*\* Mnとして300μgをMnSO<sub>4</sub>で添加

第4表 灰化温度の影響(リンゴ樹体各部)

試料	乾式			試料	乾式		
	520°C	580°C	湿式		520°C	580°C	湿式
1年枝木部	ppm	ppm	ppm	1年枝皮部	ppm	ppm	ppm
	57	27	95		156	60	364
	63	34	105		216	44	483
2年枝木部	44	28	97	2年枝皮部	165	38	341
	106	30	96		103	68	260
	67	29	50		116	39	451
3年枝木部	49	31	52	3年枝皮部	119	48	292
	78	27	79		172	32	469
	106	23	97		196	40	273
根、木部	43	34	60	根、皮部	201	66	183
	56	36	65		103	41	189
	139	79	160		81	43	101

反復なし

のものに問題があるためではなく、灰化後の灰の処理方法が不適当なためであると考えられた。

灰化して生じた灰の処理方法を変えた場合の分析値の変化を第5表に示した。加熱浸出は前述のように沸騰湯浴上で10分間行なったものである。湿式HF処理は、100mlテフロンビーカーをテフロン板で覆ったものを分解容器とし、ホットプレート上で湿式分解後、HFで処理して除珪酸したものである。

第5表 除珪酸の影響

試料	乾		式		湿式HF処理
	加HNO <sub>3</sub> (1+1)	熱浸出HCl(1+1)	珪酸分離	珪酸分離後HF処理	
リンゴ葉身	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
水稻茎葉	153	160	184	211	214
リンゴ葉身	283	286	446	482	486

## 3 反復平均値

注：この試料の珪酸含量はリンゴ葉0.42%、水稻14.28%である。

灰に酸を加え加熱浸出する方法はいずれもかなり低い値を示すばかりでなく、これまでの実験例では、再現性が著しく悪い傾向が認められた。試料溶液にしたものから試料をとり、発色を反復した場合の再現性は非常に良好なところから、発色方法に問題があるのではなく灰化方法、特に珪酸の共存が問題になることは第5表からも明らかである。

単に珪酸分離だけを行なっても、除珪酸を行なったものに比べると約10%低い値を与えた。したがって乾式灰化を行なう場合には、HF<sup>8)</sup>で処理し、除珪酸を行なうことが望ましく、これは本間の指摘するとおりである。

以上のように、乾式法では珪酸の処理が分析値に大きな影響を与え、分析値の低下とバラつきの主な原因と考えられる。しかし、単にMnSO<sub>4</sub>だけを加熱するか、あるいはこれに濾紙を加えて灰化しても低下がみられ、また、この低下が加熱温度によって影響を受けるところから、1部のMnは加熱によって多価Mn酸化物に変わり、この1部が稀酸に不溶性であるため濾紙上に残り、分析値の低下をひきおこすのではないかと思われる。Mnは加熱によって比較的容易に多価酸化物に変わり、そのあるものは希HNO<sub>3</sub>に難溶であるとされている。<sup>8,12)</sup>

湿式分解では珪酸による“とりこみ”(retention)は通常無視できる程度とされており、PIPERまたはJACKSONも特に珪酸除去を行っていない。JACKSONによると、湿式分解を終った試料はconc. HClと6N HClを用いて分解フラスコから遠心沈澱管に移すことになっているがこれを熱水で濾紙上に移し、ビーカーに濾過すると操作はなほ簡単である。この方法と前述のテフロン器具による湿式分解・HF処理を比較した結果を第6表に示した。

第6表 湿式分解における除珪酸の影響

試料	湿式*	湿式HF処理
リンゴ葉身	106ppm	114ppm

2反復平均値

\* 分解後熱水処理

除珪酸によって分析値はやゝ高くなる傾向がみられるが、実用上は差支えない程度と思われる。<sup>11)</sup>高橋も湿式分解に当たり同様に水で処理している。

## (2) 湿式分解の方法

Mnの分析に当たり乾式法で除珪酸を行なうためには白金器具を必要とする上、はなはだしく手数のかかる操作を必要とするなど問題が多い。湿式法は比較的多数の試料を取扱う場合に便利で、再現性も良好である。した

がって、JACKSONの方法に基づく下記の方法が一般的であると思われる。

## 〔方法〕

Mn含量に応じて秤量管に試料をとり、乾燥、秤量したものを100mlキエルダール分解瓶にとり、conc. HNO<sub>3</sub> 5~10mlを加え、低温で予備分解する。試料量はリンゴ葉で0.5~1.0g、木部などは1~2g以上が適当である。予備分解はHNO<sub>3</sub>が弱く沸騰する程度で、ほとんど蒸発するまで行なう。これを冷却し、HNO<sub>3</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-HClO<sub>4</sub>混合液(10+1+4) 5~10mlを加えて加熱分解し、要すればさらにHNO<sub>3</sub>を加えて分解を続け、分解液が白色透明になり、H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>でわずかに湿っている程度になったら分解を止めて冷却する。この分解瓶に熱水を加え、沈澱を濾紙に移し、濾液は100ml トールビーカーに集める。同様に濾紙と分解瓶を洗い、洗液は前記ビーカーに集める。

ビーカー中の溶液を蒸発乾かし、これにconc. HNO<sub>3</sub> 5ml, 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 3mlを加え、時計皿で覆い約30分間弱火で反応させた後蒸発乾こする。

これに引き続き後述の過よう素酸法による発色操作を行なう。

## 2. 過よう素酸比色法の検討

### (1) NaOH添加の影響

過よう素酸法による呈色は非常に安定であり、再現性もすこぶる良好で非常に信頼できる方法であるが、発色を完了させるため、溶液を沸点近くまで加温し30~60分間保温することが要求されている。これは、かなり手数を要する上、Mn含量が微量のときには発色が遅れるか完全に発色しない場合がある。

Mnの発色を早めるため、MEHLICH,<sup>7)</sup> SANCHEZ<sup>9)</sup>ら、HUNTER<sup>4)</sup>ら、およびGREWELING<sup>1)</sup>らは過よう素酸試薬を添加した後8~20%NaOH溶液を加えることを試みている。この点を検討したところ、NaOHの添加によって発色は著しく促進され、普通、その後加熱する必要を認めないほどである。第7表は、NaOHを添加したものと加熱(10分間)のみの場合を比較した結果で、熟成時間が短い場合には、明らかにNaOH添加の発色が早い。

第7表 発色に対するNaOH添加の影響

試料	A	B	C
NaOH添加	153ppm	169ppm	147ppm
加熱*	136	152	134

\* 10分間ホットプレート上で加熱、冷却後直ちに測定

ただし、NaOH溶液を加え所要容量にメスアップしたとき、発色した試料溶液のpHは1~2に保つ必要があり、2以上では退色することがある。

1) 発色に及ぼすNaOHの作用について、GREWELINGは試料溶液中の $H_3PO_4$ を中和するため発生する熱がMnの酸化を促進するとしている。しかし、沸騰する程度に加熱を続けても十分に発色しない試料にNaOHを加えると直ちに明りような発色が認められることがしばしばあり、単に中和熱だけの作用ではないようである。

### (2) 高濃度溶液の希釈

誤差の少ない比色測定を行なうためには、後述するように使用する波長、吸収セルの光路長などとの関連のもとで、呈色液の吸光度がある一定の範囲内にある必要がある。

試料のMn含量の推測を誤ると、呈色が著しく濃いため測定できないか、誤差が多くなる場合がある。これを適当に希釈すれば良いが、その希釈方法を検討した結果を第8表に示した。濃い呈色液を10倍(5mlとり50mlに希釈)に希釈するにあたり、再び発色剤とNaOHを加えて発色操作を行なったものと、単に水で希釈した場合を比較したものである。

第8表 高濃度呈色液の希釈方法の検討

	発色1hr.後			発色18hrs.後		
	A	B	C	A	B	C
原液	0.880	2.070	3.200	0.890	2.140	*
試薬添加後希釈	0.080	0.220	0.390	0.090	0.227	0.408
水で希釈	0.080	0.205	0.365	0.088	0.220	0.377

吸光度読取り値で表示、対照液には普通のBlank solutionを使用。

\* 測定不能

両希釈方法の間には大差はみられないが、試薬添加後希釈したものが多少高い値を示した。この理由の1部は被検液と対照用Blankとの間の試薬濃度の差にあると思われる。18時間後の測定結果は1時間後のものよりやや高いが、相対的に大差がない。したがって、普通は単に水で希釈するだけで充分であり、肥料化学科資料も同様な結論を得たことを報告している。

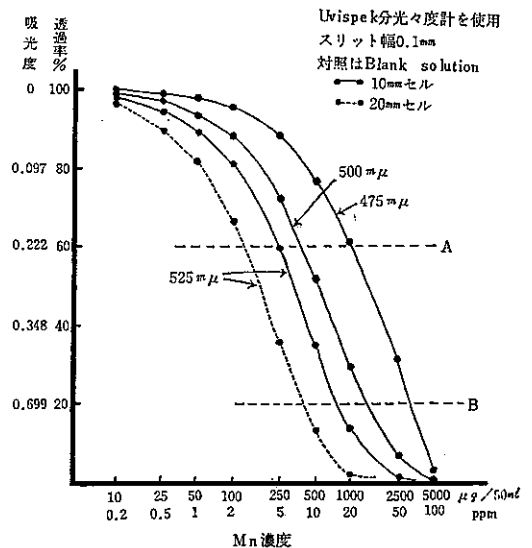
### (3) 検量線の検討

比色測定にあたり、測定の相対誤差が透過率0%および100%付近で著しく増加することは良く知られており、透過率20% (吸光度で約0.7) から60% (約0.2) の間で測定できるようにMn濃度と波長および吸収セルを選ぶことが望ましい。

この点を検討するためMn濃度を $10\mu\text{g}/50\text{ml}$  (0.2

ppm) から $500\mu\text{g}/50\text{ml}$  (100ppm) まで段階をつけ、10mmおよび20mmの吸収セルを使い、 $475\text{m}\mu$ から $575\text{m}\mu$ まで $25\text{m}\mu$ おきに波長を選んでBlank solutionを対照にして測定した。その結果の1部を第1図に示した。横軸に平行な破線A、Bにはさまれる部分が誤差少なく測定できる部分であり、透過率36.8% (吸光度0.434) の部分で誤差は最小になる。

第1図 Mn濃度と吸光度の関係



したがって、この方法でMnの測定を行なう場合の最適濃度範囲は第9表のようにになる。この値は使用する分光光度計の性能によって大きく異なるので、それぞれの器械についてMn濃度対透過率(吸光度)の関係をプロットして決定する必要がある。

第9表 Uvispek分光光度計によるMnの最適濃度範囲

使用波長	Mn濃度範囲 (10mmセル)	Mn濃度範囲 (20mmセル)
$475\text{m}\mu^*$	20~70ppm	10~35ppm
500	7~30	4~15
525	5~16	2.5~8
550	6~20	3~10
$575^*$	12~50	6~25

\* この波長ではベールの法則からかなりはずれた結果を示す。

この呈色液の極大吸収は $525\text{m}\mu$ 付近にあるとされており、この波長が最も感度が良い。この分光光度計では測定にあたって、Mn濃度が $2.5\sim 30\text{ppm}$ 程度になるように試料の量を選ぶかまたは希釈し、波長 $500\sim 550\text{m}\mu$ で測定するのが最も適当である。

## (4) 発色方法

過よう素酸比色法については多くの研究があり、特に農技研、肥料化学科によるこの方法の検討は詳細をきわめ、参考になる点が多い。

リンゴ樹体試料について、われわれは次のような方法を用いている。

## 〔方法〕

湿式分解後  $\text{HNO}_3$  と  $\text{H}_2\text{O}_2$  によって処理し蒸発乾こしたビーカー中の試料は、次の操作によって発色させる。

conc.  $\text{HNO}_3$  150ml と 80%  $\text{H}_3\text{PO}_4$  200ml を混合し、 $\text{KIO}_4$  6g を加え溶解し水を加えて 1ℓ にする。この発色用混合試薬 10ml を前述のビーカーに加え、ビーカー中の残さを溶解する。これに 20%  $\text{NaOH}$  10ml を加え混合し、発色が完了したら呈色の濃度に応じて 25ml-100ml の

メスフラスコに移し、ビーカーおよびロートを水で洗い、冷却後定容にする。これを 30分以上放置した後比色する。

Mn 標準液および Blank solution も以上と同様にして作り、比色測定は Blank solution を対照にして行なう。

場合により、20%  $\text{NaOH}$  添加後ホットプレート上で弱く沸騰する程度に加熱し、発色を完全にしてもよい。また、湿式分解を終った試料は、本法のように直接ビーカーへ移さず、1度メスフラスコに移して定容にし、これから 1 定量とって蒸発乾涸し、 $\text{HNO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}_2$  処理を行ない発色操作に移してもよい。分解および発色操作とも、適宜 Blank test を行ない汚染などによる誤差を check することが望ましい。

## VI 摘 要

リンゴ樹体各部、特に葉中の Mn を定量するため、試料の灰化方法と過よう素酸比色法について検討した。乾式灰化では珪酸共存の影響が大きく、その分離または除去操作が必要であって多数の試料の分析には難点があり

迅速かつ再現性の良好な点から湿式分解が適当と思われた。過よう素酸比色法については、 $\text{NaOH}$  添加による発色の促進など、2, 3 の点につき検討を行なった。

## 引 用 文 献

- GREWELING, T. and M. PEECH. 1960. Chemical soil test. Cornell Univ. Agric. Exp. Sta. Bull. 960.
- 肥料化学科. 1963. 鉍さい肥料主成分の定量法について. (IV) マンガンの定量法について. 農技研肥料化学科資料第81号.
- 本間廉造. 1966. 植物のマンガン、モリブデンおよびコバルトの比色分析法. 土肥誌. 37: 55-62.
- HUNTER, A. H. and N. T. COLEMAN. 1960. Ion-exchange separation in the determination of some polyvalent metal ions in plant tissue. Soil Sci. 90: 214-218.
- JACKSON, M. L. 1962. Soil chemical analysis. Prentice Hall Inc.
- JONES, L. H. P. and G. W. LEEPER. 1951. The availability of various manganese oxides to plants. Plant and Soil 3: 141-153.
- MEHLICH, A. 1957. Aluminum, iron and pH in relation to lime induced manganese deficiencies. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 21: 625-628.
- PIPER, C. S. 1950. Soil and plant analysis. Interscience Publishers Inc. 青森県農試. 施肥改善科. 抄訳資料.
- SANCHEZ, C. and E. J. KAMPRATH. 1959. Effect of liming and organic matter content on the availability of native and applied manganese. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 23: 302-304.
- 佐藤公一. 1957. 果樹の葉分析法. 作物試験法. 農業技術協会.
- 高橋治助. 1957. 植物無機成分分析法. 作物試験法. 農業技術協会.
- 千谷利三. 1953. 無機化学. 産業図書.

## Notes on manganese determination in apple tree tissues

KOUSHIRO NAGAI, AYATARI IZUMIYA and SATOSHI SAKURADA

(Aomori Apple Experiment Station)

## Summary

The work was undertaken in an effort to produce a rapid reliable method for the determination of manganese in apple tree tissues.

The work shows that the wet digestion method described by Jackson is satisfactory and that by employing sodium hydroxide solution as a color promoting agent it is possible to simplify the usual heating process for color development in colorimetric periodate method.

