KOREAN J. FOOD SCI. TECHNOL.
Vol. 15, *No.* 3 (1983)

原子吸光分析을 위한 食品試料 前處理方法

-王水液 処理法과 乾式 및 湿式分解法과의 比較-

禹順子 · 柳時生
고려대학교 농과대학 식품공학과

(1983년 1 월14일 접수)

Preparation Method for Atomic Absorption Spectrophotometry of Food Samples

-Comparison of Dry, Wet and Aqua-regia Methods-

Soon-Ja Woo and Si-Saeng Ryoo

Dept. of Food Technology, College of Agriculture, Korea University

(Received January 14, 1983)

Abstract

Aqua-regia method is reported for simultaneous determination of potassium, sodium, calcium, magnesium, zinc, manganese, copper and iron in high-fat fish tissue. Samples are digested with conc nitric and conc hydrochloric acid in a volumetric flask. After digestion, aqua-regia extracts of samples are analyzed by direct flame atomic absorption spectrophotometry. The aqua-regia method is compared with dry ashing method and H_2SO_4-HNO_3 method. For quantitative determination of calcium, magnesium and zinc, the aqua-regia method and dry ashing method are superior to H_2SO_4-HNO_3 method. In case of the other elements—potassium, sodium, manganese, copper and iron—the three methods gave the similar results. Because samples can be processed by aqua-regia method easily, rapidily, cheaply and safely, aqua-regia method is suitable for the routine preparation of a large number of samples simultaneously.

서 론

無機質은 生体代謝에 必須不可缺한 要素라는 重要性과 더불어, 生化学的 理論의 発達과 atomic absorption spectrophotometer의 開発로 인하여 많은 食品들의 無機質分析이 盛行되고 있다. 그러나 無機質 특히 微量成分의 含量은 여러가지 分析方法에 따라 예민하게 反映되어 큰 誤差를 가져오기 쉽다. 無機質成分의 同時 測定을 위한 試料 前処理 方法은 다양하게 알려져 있지만,各 方法마다 処理上 危險性이나 操作 時間이 긴 短点等이 있다.

一般的으로 無機質分析을 위한 試料 前処理方法은 크게 乾式分解法(dry digestion)과[2-5], 湿式分解法(wet digestion)으로[2,5]나눌 수 있다.

乾式分解法은 試料를 직접 灰化시켜서 酸処理하는 方法으로써 많이 使用되어 온 在来的인 方法이나 試料 前処理 過程에 많은 時間과 労力을 要하고, 회화로, 도가니 등 값비싼 기구를 使用하여야 하며, 특히 分解時 상당량의 金属元素, 즉 Na, S, I, Cr등의 成分이 gas로 発散하여 損失된다는 短点도 있다[6].

이것에 대한 硏究로써, Feinberg等[7]은 揮発性 毒性金属 -Pb, Cd, Cu-의 乾式処理 灰化時 H_2SO_4을添加하여 Sulfate로 한 후에 灰化温度를 980℃로 높여 回収率을 높이고 分解時間을 줄일 수 있었다고 하였다.

堤等[6]은 穀類, 果汁, 野菜, 大麥을 乾式灰化하여 原子吸光分析方法을 위한 Sn, Cd, Cu의 試料溶液 調製方法을 檢討하였는데, 그에 의하면, 試料溶液에 과염소산, 초산, 염산 等으로 処理하면 金屬元素의 損失이 없었다고 하였다.

Koirtyohann等[8]은 放射線 同位元素를 使用하여 生体内 組織속의 Cr, Fe, Zn와 Cd의 含量이 乾式灰化過程에서 損失되는 것을 観察하였는데, 110℃ 乾燥時와 600℃以下에서는 揮発性 損失이 없었지만 700℃에서는 Cr의 損失이 있었다고 한다.

実際的으로 많이 使用되고 있는 湿式方法中 $H_2SO_4-HNO_3$ 処理法은 Evans等[9]에 의해 採擇되었으나 특히 脂肪이 많은 試料 処理時에 $HClO_4$를 添加하면 爆発 危險性이 더 큰 短点이 있다.

Agemian等[10]은 高脂肪 魚類組織으로부터 Cr, Cu, Zn, Cd, Ni, Pb을 抽出해 낼 때 試料를 알루미늄 hot-block(150℃)에서 HNO_3와 H_2SO_4를 使用하여 分解함으로써 쉽고 빠르고 안정성있게 여러개의 Sample을 同時에 処理할 수 있었다고 하였으나 이것은 특별한 装置를 要한다는 短点이 있다. Maurer[1]는 1977年에 25%HCl-65%HNO_3(9 : 1)의 王水稀釋液과 乾式灰化法을 比較하고저 幼児의 大便과 牛乳 및 乳製品, 果実, 果実汁, 穀類, 肉類 및 肉製品, 脂肪, 菓子類 等을 混合한 食品을 分解하여 無機質含量을 測定하였는데 두 方法이 Na, K, Ca, Mg, Fe, Mn에서는 좋은一致性을 얻었으며, Cu, Zn에서는 HCl-HNO_3液 分解法이 乾式灰化法보다 더욱 좋았다고 하였으며 試料의 量이 節約되고, 所要時間이 短縮되며, 器機施設이 적어서 施設経費와 人件費를 節約시킬 수 있었다고 하였다

우리나라에는 無機質分析 Data가 많지 않고 특히 韓国 固有食品들의 分析結果는 더욱 찾아보기 힘든 実情이므로 앞으로 수행될 固有食品의 無機質分析을 위한 손쉽고 合理的인 分解法을 摸索하고저 Maurer의 方法을 基礎로 分解力이 강한 王水를 使用해서 우리나라의 固有食品인 젓갈의 材料가 되는 食品을 分解하였고, 이것을 乾式処理法과 $H_2SO_4-HNO_3$処理法에서 얻은 結果와 比較하여 보았다.

材料 및 方法

実験材料

黄石魚(yellow corvenia, 1982年7月7日 와 멸치(anchovy, 1982年6月13日, 추자도産)은 各各 수산시장에서 購入하여 実験用으로 使用하였다.

試料의 新鮮度는 中以上이었으며 水分含量은 ultra-X moisture meter에 의해 測定한 結果 黄石魚가 平均 73%, 멸치가 平均 76%였다.

試料準備

黄石魚와 멸치를 뼈채 Mixer로 잘게 갈아 얇게 펴서 60℃ mechanical circulation oven에 넣어 風速 219 *m/sec*로 하고 17時間 동안 乾燥시킨後 유발로 갈아서 Desiccator에 保管하고 試料로 使用하였다. 이때 乾燥된 試料内의 水分含量은 黄石魚가 平均 8.1%, 멸치가 平均 6.3%였다.

実験方法

가. 標準液의 調製

英国의 Pye Unicam atomic absorption data book에 의하여 調製하였다[38]. K, Na, Mg, Ca, Zn, Mn, Cu, Fe,의 標準液은 KCl, NaCl, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, $CaCO_3$ 金属 Zn(99.9% 以上), 金属 Mn(99.9% 以上), 金属 Cu(99.9%以上)와 $FeCl_3 \cdot 6H_2O$를 HNO_3와 HCl 에 녹여 使用하였으며 K, Mg, Fe은 10μg/*ml*, Na, Ca, Zn, Mn, Cu는 5μg/*ml*로 標準原液을 製造하였다.

一聯의 Standard solution은 標準原液을 다음과 같은 濃度로 稀釋하였다. Na, Ca, Zn, Cu는 0.5, 1.0 1.5, 2.0μg/*ml*, K, Fe은 1.0, 2.0, 3.0, 4.0μg/*ml* Mg은 0.25, 0.5, 0.75, 1.00μg/*ml*로 하고 Mn은 0.5 1.0, 2.0, 3.0μg/*ml*로 稀釋하였다.

各各의 standard solution은 試料液 測定時마다 그 無機質의 分光吸光度를 記録하여 Regressions coefficient를 求하고 이를 根據로 無機質含量을 換算하였다 이中 Ca, Mg은 試料測定液과 條件을 같이 하기 위해 標準液 100*ml*当 5% La_2O_3溶液 5cc씩을 넣었다.

나. 分解方法

(1) 乾式分解法(dry-method)

各 試料 3*g*을 450℃ electric furnace에서 10時間以上 흰 재가 되도록 灰化하여 250*ml* beaker에 옮기고, 빈 Porcelain Crucible을 1次로 약간의 conc HCl과 2次로 HCl+HNO_3(1 : 1) 5*ml*를 넣어 加熱한후 beaker에 씻어 옮기고, 다시 conc HCl 5*ml*를 加해 灰分을 녹이고 5*ml*정도로 濃縮시킨 後 Deionized water로 50*ml*정도까지 稀釋하고 加熱하여 可溶性 鹽類를 녹였다[2-5]. 이 試料를 100*ml* volumetric flask에 넣고 deionized water로 表線까지 채운 後 濾過하여 검액으로 하였다.

(2) 湿式分解法(wet method $H_2SO_4-HNO_3$ 分解法)

各 試料 3*g*을 取하여 500*ml* Kjeldahl flask에 넣고 conc H_2SO_4 15*ml*를 加한 後 常温에서 反応시켜 最初의 심한 反応이 끝나면 불을 약하게 하여 加熱한다.

흰색 SO_3 Fume이 나면 기벽을 따라 천천히 conc HNO_3을 방울방울 添加하면서 分解를 継続하여 無色~엷은 黃色으로 될때까지 有機物을 破壞시킨 後 低温 전열판에서 H_2SO_4의 大部分을 날려 보내 5 *ml*정도 까지 濃縮한다.

Deionized water로 약 50*ml*까지 稀釋하고 加熱한 후 放冷하여 100*ml* volumetric flask에 옮기고 deionized water로 表線까지 채워 検液으로 하였다[2].

(3) 王水処理法 (Aqua-regia method)

試料 3 *g* 을 取하여 100*ml* volumetric flask에 넣고 deionized water 10~15*ml*로 試料를 씻어 내린 후 conc HCl 12*ml*와 conc HNO_3 4 *ml*를 添加하여 water bath에 담궈 물이 끓기 始作한 후 60分間 중탕하였다 그 다음 꺼내서 放冷한 후 表線까지 deionized water로 채우고 濾過시켜 検液으로 使用하였다[1].

다. 測定方法

黃石魚와 멸치를 試料로 하여 上記의 3 가지 分解方法, 즉 乾式分解法 (以下 dry라 表示), H_2SO_4-HNO_3 分解法 (以下 wet라 表示), 王水処理法 (以下 new-wet라 表示)으로 前処理하여 K, Na, Mg, Ca, Zn, Mn, Cu, Fe을 atomic absorption spectrophotometer를 使用하여 測定하였고, 측정조건은[11] Table 1과 같다.

前処理된 試料溶液은 Zn, Mn, Cu, Fe은 原液 그대로 하고 K, Mg, Na은 100倍로 稀釋하고 Ca은 400倍로 稀釋하였다. 共存 ion의 妨害를 除去하기 위해 最終溶液 100*ml*当 5 % La_2O_3溶液 5 *ml*씩을 Mg, Ca溶液에 添加하여 測定하였다.

또한 各 実験方法에 따라 空実験 (blank test)을 하여 結果를 補正해 주었다.

라. 結果処理

実験에 의해 나온 結果는 平均値와 標準偏差를 求하여 分解方法을 比較하였으며, 各 方法의 有意的인 差異를 알기 위해 computer로 F-test하였고 有意的인 差異가 있는 分解方法은 母平均을 点推定하고 t 分布에 의한 区間推定을 하였다[12,13]. 各 分解法의 変異係数 (Coefficient of variation : 測定値分散度)는 標準偏差 S를 平均 $\bar{x}$로 나누어 求하였다. (C. V. $= S/\bar{x}$)[12,13]

結果 및 考察

멸치와 黃石魚 試料의 各 前処理方法에 따라 分析한 結果는 Table 2와 3과 같다.

K, Na, Mg, Zn, Mn, Fe :

調査된 3 가지 方法에서의 平均値의 一致性은 満足할만 했다. 높은 偏差는 모든 元素에서 나타났으나 고르지 못한 試料의 탓으로 본다. 따라서 세 抽出法은 6 가지 元素에선 有用했다.

Maurer[1]는 王水稀釋液 処理法이 乾式分解法보다 Zn에서는 優越하다고 하였으나 本研究에서는 別差 없었는데 이것은 本研究에서 王水原液을 使用하여 atomic absorption spectrophotometer에 影響을 미친 것이 아닌가 생각되며 앞으로 研究되어야 할 것이다.

Ca :

乾式分解法과 王水処理法에는 두 試料 모두에서 平均値의 一致性을 보여 Maurer의 研究結果[1]와 같았다 그러나 H_2SO_4-HNO_3分解法의 경우에 平均値에 큰 低下를 나타냈는데 그것은 $CaSO_4$가 生成되어 沈澱된 것이라고 생각된다. 따라서 Ca에 있어서는 乾式分解法과 王水処理法이 좋다고 할 수 있다.

Cu :

세 方法 모두가 커다란 差異를 나타냈으며 그 中 乾式分解法의 平均値가 가장 높았으나. data의 範囲가 黃

Table 1. Analytical conditions of atomic absorption spectrophotometer

(Pye Unicam SP192)

Condition / Element	Lamp current (*mA*)	Slit	Wave length (*nm*)	Gas	Air (litre/*min*)	Acetylene (litre/*min*)
K	8.0	0.4	766.50	Fuel lean	5.0	1.0
Na	5.6	0.4	589.00	Fuel lean	5.0	1.0
Mg	4.5	0.8	285.00	Stoichiometric	5.0	1.2
Ca	4.5	0.8	422.67	Stoichiometric	5.0	1.2
Zn	7.0	0.4	213.90	Fuel lean	5.0	1.0
Mn	8.5	0.4	279.48	Fuel lean	5.0	1.0
Cu	4.0	0.4	324.75	Fuel lean	5.0	1.0
Fe	10.5	0.4	248.33	Fuel lean	5.0	1.0

Table 2. Contents of various elements in yellow corvenia by dry, wet and new-wet method

(dry basis)

method / Element	Dry (n=10) Mean±S.D.	Wet (n=7) Mean±S.D.	New-wet (n=10) Mean±S.D.
K (mg/100g)	773±62.8	778±88.5	774±76.2
Na (mg/100g)	446±133.8	368±171.4	410±155.0
Mg (mg/100g)	156±6.4	149±7.0	158±4.4
Ca (mg/100g)	3,150±709.3	1,301±736.9	3,201±955.8
Zn (ppm)	40.90±3.985	32.12±10.033	40.67±3.517
Mn (ppm)	4.86±2.734	5.17±1.251	5.69±2.442
Cu (ppm)	35.01±74.673	6.14±7.241	1.93±1.447
Fe (ppm)	63.74±28.970	60.00±13.813	52.10±22.181

Dry : Dry ashing method

Wet : Digestion with $H_2SO_4+HNO_3$ solution

New-wet : Digestion with aqua-regia

Table 3. Contents of various elements in anchovy by dry, wet and new-wet method

(dry basis)

method / element	Dry (n=3) Mean±S.D.	Wet (n=3) Mean±S.D.	New-wet (n=3) Mean±S.D.
K (mg/100g)	988± 23.9	1,041±107.4	983± 55.9
Na (mg/100g)	613±116.7	886±322.5	681±115.5
Mg (mg/100g)	203± 7.3	245± 30.1	208± 6.4
Ca (mg/100g)	2,768. ±105.2	1,536±142.3	2,885± 79.8
Zn (ppm)	82.83±0.96	60.68±4.30	80.52±3.17
Mn (ppm)	42.52±2.07	35.27±1.38	39.45±0.21
Cu (ppm)	48.42±43.38	3.61±0.58	6.11±1.28
Fe (ppm)	205.17±10.68	153.87±10.44	191.83±16.56

石魚의 경우 not detected~244.17ppm, 멸치의 경우 17.74~203.86ppm으로 컸고 平均値에 比해 標準偏差가 100~200%로 큰 誤差를 招来하였다. 이것은 $CuCl_2$가 유발될 수 있는 가능성과 Cu가 炭化되지 않은 입자 状態로 酸処理에 全量을 抽出할 수 없었던 것 같다. $H_2SO_4-HNO_3$分解時, 平均値가 적은 것은 $Cu(NO_3)_2$가 生成되어 乗化되었기 때문인 것 같으며 王水処理法의 경우도 $CuCl_2$가 유발된 것 같다.

위의 結果를 더욱 정확히 알기위해 実験計画法에 의한 一因子 要因実験으로 分析하였으며, 그 結果는 다음과 같다.

황석어의 경우 :

K, Na, Mn, Cu, Fe測定値에 있어서 세 方法은 有意的인 差異가 없었으므로 이 元素에 있어 같은 結果를 나타낸다고 볼 수 있다. Mg과 Zn에서는 $P<5\%$의 有意的인 差異가 있었고 Ca에서는 $P<1\%$의 高度로 有意的인 差異가 있었다. 따라서 Mg, Ca, Zn의 3元素에 対해 母平均을 推定해본 結果 Fig 1과 같은 信頼区間을 얻을 수 있었다.

Fig 1에 依한 세 元素의 共通点은 乾式分解法과 王水処理法에서 비슷한 母平均 水準効果를 나타냈으나 $H_2SO_4-HNO_3$湿式分解法에서는 낮은 水準効果를 나타냈다. 이 結果에 의해 乾式分解法과 王水処理法이 같은 効果를 나타냈다.

前処理時에 所要되는 時間을 測定해 본 結果, 6개의 試料를 分解했을 때 乾式分解法이 약15~20時間, $H_2SO_4-HNO_3$ 分解法이 약5~6時間, 王水処理法이 약4~5時間으로 王水処理法에 所要되는 時間이 가장 짧았다. 湿式分解法도 処理時間이 짧은 편이나 특히 脂肪性 食品이 爆発危険性을 안고 있고 위의 実験結果로

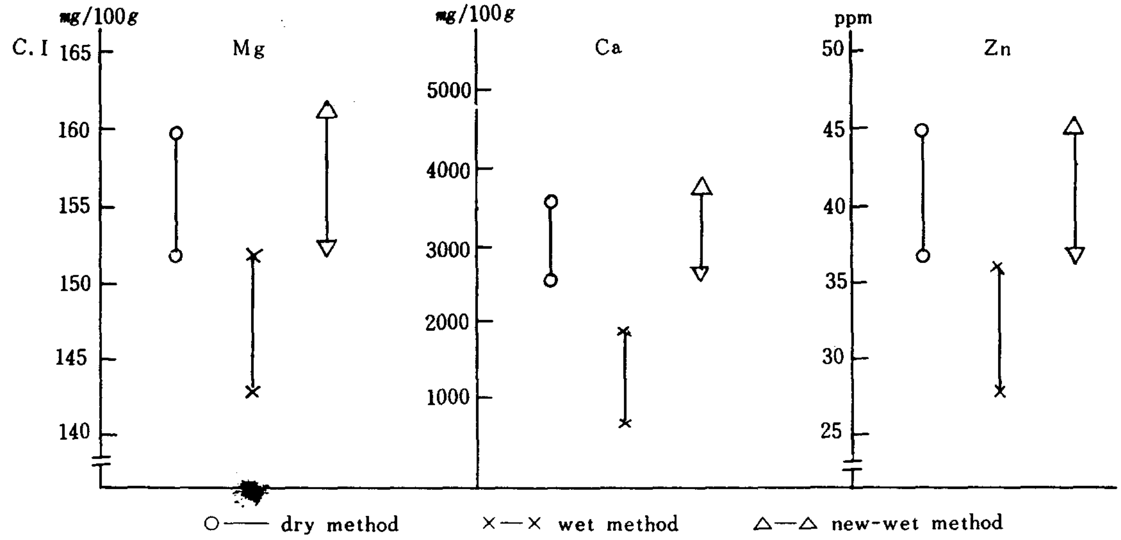

Fig 1. Confidence interval of Mg, Ca and Zn contents by three different method in yellow corvenia (dry basis)

보아 無機成分 含量이 낮게 測定된다.

멸치의 경우 :

K, Na, Mg, Cu에 있어서 有意的인 差異가 없었으므로 세 方法이 이 元素에 있어 같은 結果를 나타낸다. Ca과 Zn에서는 高度로 有意的인 差異를 (P< 1 %) 나타넷으며 Mn과 Fe의 測定値도 P< 5 %의 有意性을 나타냈으므로 母平均을 推定하였고 그 結果는 Fig 2 와 같았다. 여기에서도 黃石魚와 거의 비슷한 結果를 나타냈으며 王水処理法이 Ca에선 약간 높고 Zn, Mn 과 Fe에서 약간 낮았지만 乾式分解法에 의한 測定値와 비슷한 母平均 水準 效果를 나타내고 있다.

各 分解法에 의한 測定値의 分布度를 알아 보기 위하여 Table 2 와 3 을 根據로 変異係数(coefficient of variation)를 求하여 그 結果를 Table 4 에 提示하였다

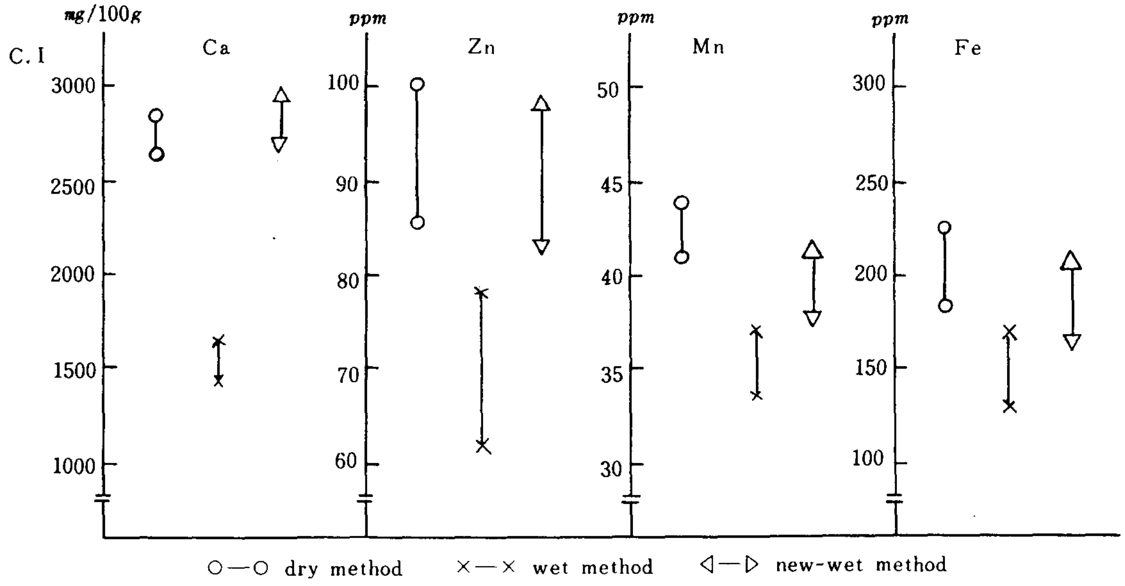

Fig 2. Confidence interval of Ca, Zn, Mn, and Fe contents by three different method in anchovy (dry basis)

|기에서 보는 바와같이 王水処理法이 黃石魚나 멸치 |서 모두 変異係数의 変動이 심하지 않았고 多量元素 |서는 훨씬 낮은 変異係数로 총평균 変異係数가 0.195 는 dry 0.325, wet 0.261보다 가장 낮다.

위의 두 試料에서 나타난 結果에 의하면 王水処理法이 乾式分解法과 $H_2SO_4-HNO_3$分解法보다 좋다는 結論을 얻었고 따라서 이상의 元素들의 同時測定을 위한 分解法으로서는 王水処理法이 가장 양호한 것으로 판정된다.

able 4. Variation's coefficient of element's contents in yellow corvenia and anchovy by three methods

(dry basis)

Element \ Sample \ Method	Dry (n=10)		Wet (n=7)		Net-Wet (n=10)	
	Y. C	A	Y. C	A	Y. C	A.
K	0.081	0.024	0.114	0.103	0.098	0.057
Na	0.300	0.190	0.466	0.364	0.378	0.170
Mg	0.041	0.036	0.047	0.123	0.028	0.031
Ca	0.225	0.038	0.566	0.093	0.299	0.028
Zn	0.097	0.012	0.312	0.071	0.087	0.039
Mn	0.563	0.049	0.242	0.039	0.429	0.005
Cu	2.133	0.896	1.179	0.161	0.750	0.210
Fe	0.455	0.052	0.230	0.068	0.426	0.086
Total Mean	0.325		0.261		0.195	

Y.C. : Yellow corvenia　　A : Anchovy

요　약

合理的이고 經濟的인 分解方法을 摸索하기 위해 高脂肪 含有食品인 생黃石魚와 생멸치를 乾燥하여 粉末로 한후 王水処理法, 乾式分解法과 $H_2SO_4-HNO_3$ 分解法으로 前処理하여 atomic absorption spectrophotometer를 통해 K, Na, Mg, Ca, Zn, Mn, Cu, Fe을 測定하였으며 그 결과는 다음과 같다.

(1) 乾式, 湿式 및 王水処理法에 의한 測定値 중 黃石魚에선 K, Na, Mn, Cu와 Fe의 含量이 分解法에 따른 有意性을 나타내지 않았고, 멸치에서는 K, Na, Mg, Cu의 含量이 세 分解法에서 有意性이 없었다. 반면에 Mg과 Zn(황석어)와 Mn과 Fe(멸치)는 分解法에 따라 p< 5%의 有意性을 보였고, Ca(황석어와 멸치)과 Zn(멸치)는 P< 1%의 높은 有意性을 나타냈다.

(2) 세 分解法에 의한 測定値의 有意的인 差를 근거로 母平均을 推定한 結果, 일반적으로 乾式分解法에 의한 結果와 王水処理法에 의한 測定値가 같은 水準效果를 나타냈고 在来式 湿式法은 母平均이 가장 낮은 水準效果를 나타냈다.

(3) 各 測定値와 標準偏差를 근거로 変異係数(coefficient of variation)을 求해 본 結果, 乾式分解法이 가장 높은 変異係数 0.325였고, 王水処理法에 의한 測定値가 湿式法의 0.261보다도낮은 0.195로 가장 낮은 変異係数를 보여 그 信頼度를 높여 준다.

문　헌

1. Maurer, J. : *Z. Lebensm. Unters.-Forsch.*, **165**, (1977)
2. 衛生試験法 註解 : 日本薬学会 編, 金原出版株式会社(1980)
3. 이현기 : 食品化学実習, 수학사, 142-153.
4. 정동효, 장현기 : 食品分析, 진로연구사(1979)
5. 韓国食品工業協会 : 食品添加物의 規格 및 基準, (1977)
6. Dry Ashing Method of Various Foods for Solvent Extraction-Atomic Absorption Spectrophotometry, BUNSEKI KAGAKU, 25 : 155-160(1976)
7. Feinberg, M. and Ducauze, C. : *Anal. chem*, **52**, 207 (1980)
8. Koirtyohann, S. R. and Hopkins C. A. : *Analyst* **101**, 870(1976)
9. Evans, W. H., Read J. I. and Brenba E. L. : *Analyst*, **103** : 580(1978)
10. Agimian, H., Sturtevant, D. P., and Austen K. D *Analyst*, **105**, 125(1980)
11. Pye Unicam Atomic Absorption Data Book(1975)
12. 李相銘 : 実験計劃法, 三元出版社(1980)
13. Hicks, C. R. : *Fundamental Concepts in the Design of Experiments*, Holt, R&W, Inc(1964)