

蛍光X線分析装置を用いた玄米中臭素の妥当性評価試験

上條 恭子^a, 富澤 早苗^a, 八巻 ゆみこ^b, 中島 崇行^a, 山本 和興^a, 高田 朋美^a, 小鍛冶 好恵^a,
渡邊 趣衣^{c,d}, 大澤 佳浩^a, 大塚 健治^b, 横山 知子^a

蛍光X線分析装置を用いた玄米中の臭素分析法について妥当性評価試験を行った。本法は、玄米を細かく粉碎し、加熱乾燥させ、加圧成型機でペレットに成形したものを蛍光X線分析装置にて測定し、得られた臭素濃度に乾燥前後の玄米の含水率から得られた係数を乗じて玄米中の臭素濃度を算出する分析法である。妥当性評価試験は、玄米中の臭素濃度が5及び50 µg/gとなるように臭化カリウムを添加し、分析者2名が併行数2で3日間の試験を行った。その結果、本法は「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」の目標値に適合し、分析法の妥当性が確認できた。また、本法における定量下限値は1 µg/gとした。本法を用いて東京都内に流通していた16道府県産玄米80試料について実態調査を行ったところ、1試料より1 µg/g (1 ppm) の検出を確認したが、残留基準値 (50 ppm) は超過しなかった。

キーワード: 臭素, 玄米, 蛍光X線分析装置, 妥当性評価試験, 定量下限値, 残留基準値

はじめに

東京都では、従来ガスクロマトグラフを用いた試験法¹⁾で玄米中の残留臭素の実態調査を行っていたが、平成11年からは、より簡易かつ迅速な蛍光X線分析法を用いて実態調査を行っている²⁾。今回、当センターにおいて測定装置が更新されたため、厚生労働省から通知された「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」³⁾ (以下、ガイドライン) を参考に、蛍光X線分析法による玄米中の臭素の分析法について妥当性評価試験を実施したところ、良好な結果が得られたので報告する。

実験方法

1. 試料

検量線及び妥当性評価試験では、都内に流通していた玄米を臭素 (Br) の残留がないことを確認した上でブランク試料に供した。実態調査では、平成30年10月から令和3年12月に東京都内で流通していた国内産16道府県産21品種の玄米80試料を用いた。

2. 試薬・装置等

1) 臭化カリウム

特級、富士フィルム和光純薬 (株) 製。

あらかじめ130°Cで4時間加熱乾燥し、デシケーター内において放冷したものを使用した。

2) 臭素標準溶液

臭化カリウム148.9 mgを正確に量り取り、超純水に溶解

し、100 mLとしたものを標準溶液 (1 mg/mL) とした。用時、超純水で希釈し、2.5, 5, 10, 20 mg/Lの標準溶液とした。

3) 超純水

Milli-Q Integral MT 10L, メルクミリポア社製。

4) 粉碎機

ファイバーミキサー MX-X100, パナソニック (株) 製。

5) 乾燥器

送風低温乾燥機 FC-610, アドバンテック東洋 (株) 製。

6) 試料加圧成型機

錠剤成型圧縮機 BRE-31, (株) 前川試験機製作所製。

7) セルシート

ポリエステル (厚さ5 µm), (株) リガク製。

8) 蛍光X線分析装置

走査型蛍光X線分析装置 ZSX Primus IV (波長分散型), (株) リガク製。

(1) X線励起条件 ターゲット; End Window型ロジウム (Rh)。管電圧50 kV, 管電流70 mA。

(2) 光学系条件 分光結晶; LiF(200)。検出器; シンチレーションカウンター (SC)。

(3) X線照射部条件 X線照射測定径; 30mm φ。雰囲気; 真空。

^a 東京都健康安全研究センター食品化学部残留物質研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 東京都健康安全研究センター食品化学部食品添加物研究科

^c 当時: 東京都健康安全研究センター食品化学部残留物質研究科

^d 現所属: 東京都市場衛生検査所
135-0061 東京都江東区豊洲六丁目6番1号

3. 前処理

1) 玄米の乾燥と含水率の計算

粉碎機にて玄米試料を粉碎し、100 mLのビーカーに10.0 gずつ量り取った。このビーカーに軽くアルミホイルをかぶせ、乾燥機にて玄米試料を130°Cで2時間加熱乾燥させた。加熱乾燥後は玄米試料をデシケーター内において室温になるまで30分間放冷した。この際、玄米の乾燥前と乾燥後の重量を測定し、その重量差から玄米の含水率を計算した。

2) 玄米ペレットの作製

内径40 mmのアルミリングをのせたペレット成型用台座に乾燥した玄米を盛り、試料加压成型機にて錠剤状に成形し、測定用玄米ペレットを作製した。測定用玄米ペレットは、ナイロンスクリーンを張ったアルミ製中空カップに乗せ、ポリエステルセルシートで覆い、周囲をテープで一周させてセルシートでペレットを密閉させた (Fig. 1)。これに、中空カップの側面の穴から空気が抜けるようにセルシートに2か所千枚通しで穴をあけて真空デシケーター内に入れ、吸引ポンプを用いて陰圧脱気した。測定時は、これをホルダーに入れて測定量試料とした (Fig. 2)。

4. 分析方法

1) バックグラウンド処理 (BG処理)

BrのX線強度Br-K α (分光角度 29.950°, 測定時間 20s, 以下同様), バックグラウンド1のX線強度BG1 (29.600°, 10s), バックグラウンド2のX線強度BG2 (30.300°, 10s), BG1及びBG2を結んだ直線をベースラインとして、Br-K α 線のX線強度からベースラインのX線強度を差し引いた値をNet強度とした。

2) 定性方法

蛍光X線分析装置にてスキャンした分光角度 (29.600°~30.300°) で妨害がないことを確認した29.950°をBrのK α 線と帰属した (Fig. 3)。

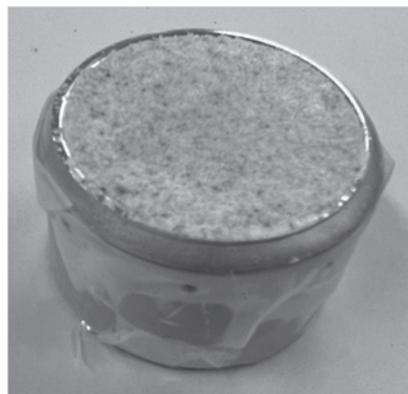


Fig.1. Sample on an Aluminum cup



Fig.2. Sample in Holder

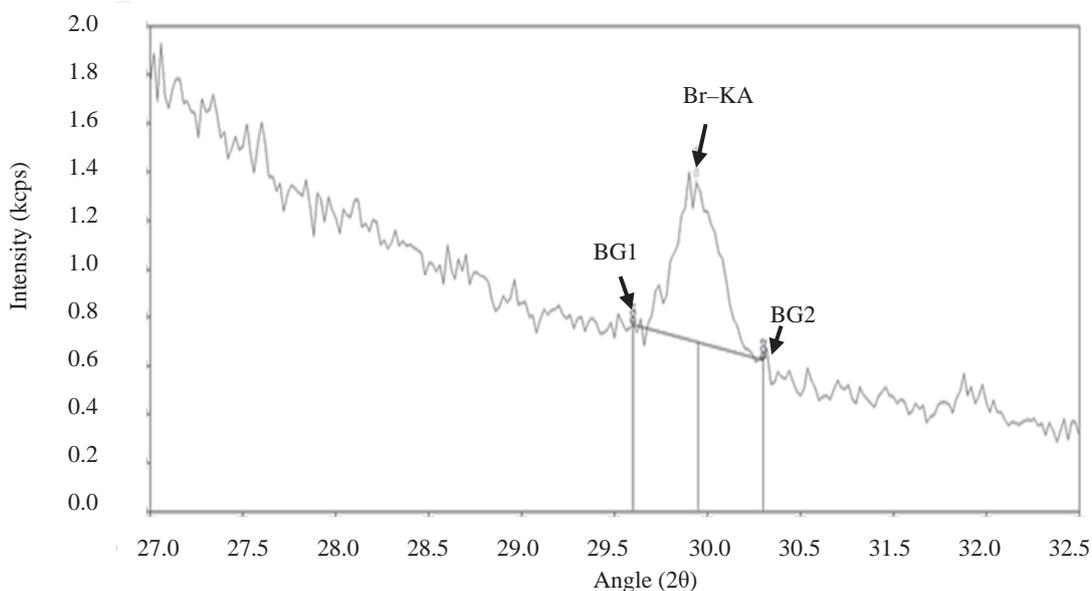


Fig.3. Background(BG) Processing

3) 定量方法

蛍光X線分析装置にてBG処理で得られたNet強度を測定値とした。ブランク試料で作成した0~100 µg/gの範囲の検量線を用いて、絶対検量線法により乾燥玄米中のBr濃度を求めた。このBr濃度に、玄米の含水率から得られた係数を乗じて乾燥前の玄米中のBr濃度を計算し、定量値とした。

玄米含水率 (%) =

$$\frac{(\text{玄米重量(g)} - \text{乾燥後玄米重量(g)})}{\text{乾燥前玄米重量(g)}} \times 100$$

玄米中Br濃度 (ppm) =

$$\text{乾燥玄米中Br濃度(ppm)} \times (100 - \text{玄米含水率}) / 100$$

4) 検量線の作成

既報²⁾を参考に、①スクリーニング検査にて検出が想定される低濃度範囲、②玄米における残留基準値 (50 ppm) 違反を想定した高濃度範囲の2つのレンジの検量線を作成した。測定試料がスクリーニング用検量線より高濃度だった場合は、該当試料を希釈せず、②の高濃度用の検量線を用いて測定することとした。

① 乾燥器にて乾燥させ放冷した玄米10.0 gに、それぞれ超純水、10, 25, 50 mg/Lの臭化カリウム水溶液を2 mLずつ添加し、0, 2.0, 5.0, 10 µg/gの検量線用玄米試料を作製した。これを試料加圧成型機にて錠剤状に成形し、検量線用ペレットとした。

② 乾燥器にて乾燥させ放冷した玄米10.0 gに、それぞれ

超純水、50, 125, 250, 375, 500 mg/Lの臭化カリウム水溶液を2 mLずつ添加し、0, 10, 25, 50, 75, 100 µg/gの検量線用玄米試料を作製した。これを試料加圧成型機にて錠剤状に成形し、検量線用ペレットとした。

5) 妥当性評価試験

ブランク試料を、乾燥機にて130°Cで2時間加熱乾燥させ、加熱乾燥後は試料をデシケーター内において室温になるまで30分間放冷した。この試料を正確に10.0 g量り取り、既報²⁾を参考に標準溶液2 mLを添加した、添加濃度は、Brが玄米の残留基準である50 ppm及び低濃度検量線において中点となる5 ppmとした。標準溶液添加後は30分放置した後、再度乾燥機にて130°Cで2時間加熱乾燥させ、試料の重量が恒量になったことを確認したうえで、前処理操作を行った。添加回収試験は、分析者2名が併行数2で3日間、実施した。測定後、平均回収率から真度、一元配置の分散分析により併行精度及び室内精度を算出した。

結果及び考察

1. 検量線

検量線用ペレットを蛍光 X 線分析装置にて測定したところ高濃度範囲及び低濃度範囲 (0~100 µg/g) とともに回帰直線の決定係数は 0.999 以上であり、検量線は良好な直線であった (Fig. 4, Fig. 5)。

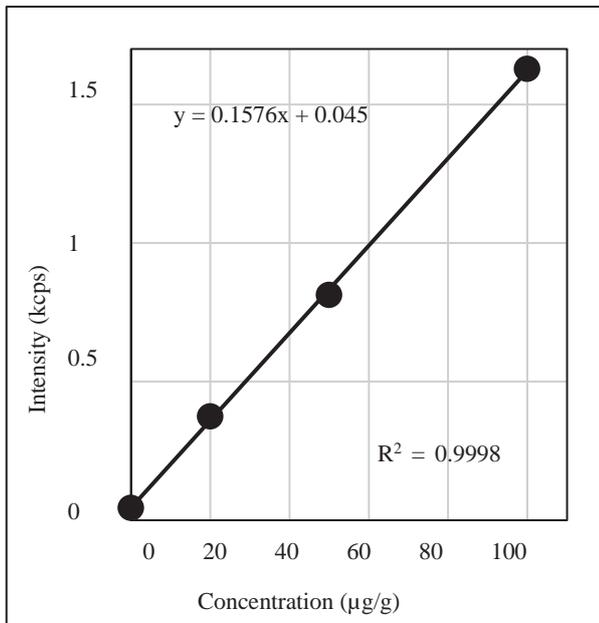


Fig. 4. Calibration Curve of Bromide in Brown Rice (for 5 ppm addition)

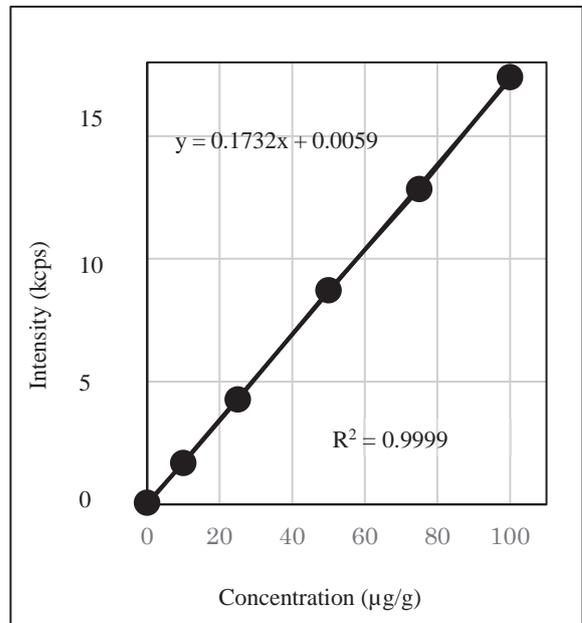


Fig. 5. Calibration Curve of Bromide in Brown Rice (for 50 ppm addition)

Table 1. Quantification of Bromide in Brown Rice^{*)}

Sample No.	Concentration (ppm)
1	1.032
2	1.172
3	1.016
4	1.089
5	0.970
6	1.094
7	1.035
8	1.002
9	1.151
10	1.056
11	1.078
12	1.102
13	0.880
14	1.061
15	1.020
16	1.036
17	1.119
18	1.079
19	1.155
20	1.055
Average	1.060
STDEV	0.0678
CV(%)	6.390

*) Add 5 µg/g, n=20

2. 妥当性評価

1) 選択性

ブランク試料を今回の試験法に従って分析を行い、BrのK α 線とした分光角度29.950°において定量を妨害するピークがないことを確認した。

2) 定量下限値

今回、Br添加した実試料を繰り返し測定し、算出した標準偏差 (σ) を用いて、既報²⁾で1 µg/gと設定しているBrの定量下限値を検証・確認した⁴⁾ (Table 1)。その結果、 σ ($n = 20$) = 0.0678であり統計的手法によって求められる定量下限値は $10\sigma = 0.678$ であった。よって、設定している本装置におけるBrの定量下限値1 µg/g が妥当であることが示された。

3) 真度及び精度

真度及び精度の目標値はガイドラインより、真度70～120%、併行精度10%以下及び室内精度15%以下と設定した。その結果、Br添加濃度50 ppm及び5 ppmともに、目標値を達成した。真度及び精度についての結果は、Table 2に示した。

3. 実態調査

平成30年10月から令和3年12月に東京都内で流通していた国内産16道府県産21品種の玄米80試料 (Table 3) について、本法を用いて実態調査を実施した。その結果、1試料よりBr 1 µg/g (1 ppm) の検出が確認されが、残留基準値 (50 ppm) は超過しなかった。

ま と め

玄米を対象とした蛍光X線分析装置を用いた臭素の分析法の妥当性評価をおこなった。その結果、本法は「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」の目標値に適合し、分析法の妥当性が確認できた。また、本法における定量下限値は1 µg/gとした。平成30年10

Table 2. Validation Results of Total Bromide in Brown Rice

Analyte	Trueness (%)		Repeatability (%RSD)		Within-laboratory Reproducibility (%RSD)	
	5 µg/g	50 µg/g	5 µg/g	50 µg/g	5 µg/g	50 µg/g
Bromide	96.0	97.5	3.2	3.9	4.6	4.0

n = 2 × 3 days × 2 analyst

Table 3. List of Brown Rice Samples^{*)}

Variety	No. of Samples
Akitakomachi	16
Koshiibuki	2
Koshihikari	24
Date masayume	2
Tsugaru roman	1
Tubuzoroi	1
Tuyahime	4
Nasuhikari	2
Nanatsuboshi	1
Haenuki	4
Hitomebore	6
Fusaotome	1
Fusakogane	1
Masshigura	4
Ginga no shizuku	2
Sai no kagayaki	1
Shinnosuke	1
Seiten no hekireki	3
Touhoku194	1
Moeminori	2
Satoyama no tsubu	1
Total	80

^{*)} Surveyed between 2018 and 2021

月から令和3年12月に東京都内で流通していた16道府県産玄米80試料について実態調査を行ったところ、1試料より1 µg/g (1 ppm) の検出が確認されたが、残留基準値 (50 ppm) は超過しなかった。

文 献

- 1) 公益社団法人日本薬学会編：衛生試験法・注解1990付・追補1995, 1553-1555, 1995, 金原出版, 東京.
- 2) 高田千恵子, 高野伊知郎, 永山敏廣, 他：東京衛研年報, **50**, 134-137, 1999.
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：食安発1224第1号, 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について, 平成22年12月24日.
- 4) 上本道久：分析化学における測定値の正しい取り扱い方“測定値”を“分析値”にするために, 52-59, 2011, 日刊工業新聞社, 東京.

Validation Study of the Analytical Method for Bromide Detection in Brown Rice Using X-Ray Fluorescence Spectrometer

Kyoko KAMIJO^a, Sanae TOMIZAWA^a, Yumiko YAMAKI^a, Takayuki NAKAJIMA^a, Kazuoki YAMAMOTO^a, Tomomi TAKADA^a, Yoshie KOKAJI^a, Shui WATANABE^{b,c}, Yoshihiro OHSAWA^a, Kenji OTSUKA^a, and Tomoko YOKOYAMA^a

A validation study was conducted for an analytical method for quantifying bromide in brown rice using X-ray fluorescence. The method involved finely crushing the sample by a mill followed by drying the sample by a re-circulating batch dryer and pressurizing to make its pellets using a pressure molding machine. The bromide concentration in the pellets is analyzed by X-ray fluorescence. The moisture content of each brown rice is obtained from the weight of the brown rice before and after drying. The bromide concentration in brown rice is calculated through multiplying the measured value obtained by X-ray fluorescence by each moisture content as a coefficient. In the validation study, the concentration of the added potassium bromide in brown rice was 5 and 50 $\mu\text{g/g}$ and analyses of the two samples were performed by two analysts in the span of 3 days. The results showed that this method met the target values as per the Japanese guidelines for residual agricultural chemicals in foods, confirming the validity of the analytical method. In addition, the lower limit of quantification of this method was 1 $\mu\text{g/g}$.

Using this method, we investigated 80 samples of brown rice from 16 prefectures distributed in Tokyo confirmed that 1 $\mu\text{g/g}$ (1 ppm) of bromide was detected in one sample but did not exceed the maximum residue limit (50 ppm).

Keywords: bromide, brown rice, X-ray fluorescence, validation study, lower limit of quantification, maximum residue limit (MRL)

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

^b Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, at the time when this work was carried out

^c Present Address: Wholesale Market Sanitary Inspection Station,
6-6-1 Toyosu, Koto-ku, Tokyo 135-0061, Japan