

報 文

蛍光 X 線分析法によるハウレンソウ中の無機元素の
高感度定量及び産地判別への応用築田 陽子¹, 保倉 明子¹, 松田 賢士², 水平 学², 中井 泉^{®1}

野菜中の無機元素を簡便で高感度に定量するための蛍光 X 線分析法の開発を目的とした。その結果、三次元偏光光学系を採用したエネルギー分散型装置を用い、対象元素を高効率に励起できる二次ターゲットを選択し、発生する蛍光 X 線強度を散乱線で規格化することで野菜中のサブ ppm ($\mu\text{g g}^{-1}$) レベルの重元素の分析が可能となった。本法を用いて群馬県産と岐阜県産のハウレンソウの分析を行ったところ、数% レベルの元素 (K, Ca 等) から数 ppm 程度の元素 (Cd, Ba 等) まで幅広い濃度範囲にわたる多元素を同時に定量できた。その結果、産地により Ca, Zn, Br, Rb, Mo, Ba 等で含有量に違いが見られ、産地判別に応用できる可能性が示唆された。また、本法では、重元素の高感度分析が可能なることから、野菜中の Cd 含有量のスクリーニング検査としても有用であることが分かった。

1 緒 言

食品の産地表示の正当性を確認する手法として、無機元素組成による産地判別法が注目されている。これは、植物が栽培土壌の元素組成を反映することを利用しており、最近では玄米¹⁾、ネギ²⁾、茶³⁾、果実⁴⁾、タマネギ⁵⁾、ワイン⁶⁾の無機元素組成による産地判別法が報告されている。一方、食品の安全性が問題となっている今、多種多様の食品の成分を迅速簡便に定量分析することが求められている。特に Cd については、2005 年にコーデックス委員会 (FAO/WHO 合同食品規格委員会) において食品中の含有量の規格が制定され、新鮮重量で小麦 0.2 ppm、茎菜・根菜の 0.1 ppm、葉菜の 0.2 ppm、その他の野菜の 0.05 ppm という規格が採択され、これに準じた国内の野菜等の基準値が検討されている。そのため、こうした有害重金属元素を簡便に定量する方法の開発が求められている。

従来の微量な無機元素の定量法としては、原子吸光分析 (AAS)⁷⁾ や誘導結合プラズマ発光分光分析 (ICP-AES)、誘導結合プラズマ質量分析 (ICP-MS)⁸⁾⁹⁾ が一般的である。しかし、これらの手法は、試料が溶液である必要があるため、酸分解などの煩雑な前処理を必要とし、化学実験施設と熟練した分析技術を持っていなければ信頼できる分析結果が得られないという問題点を抱えている。これに対して、エネルギー分散型蛍光 X 線分析 (ED-XRF) は、前処

理が簡便であるという特徴を持つことから、化学分析を専門とするものでなくても比較的容易に分析を行うことが可能であり、また、多元素同時分析も可能であるので、試料の無機元素組成の情報を短時間に収集することができる。しかし、従来のエネルギー分散型の蛍光 X 線分析装置では ICP-AES や ICP-MS と比較して検出感度が低く、マトリックスに含まれる微量元素の高感度定量分析は容易ではなかった。このような中、近年、二次ターゲットと三次元偏光光学系を採用したエネルギー分散型蛍光 X 線分析装置が開発され、植物試料の微量元素定量法が検討されるようになってきた^{10)~12)}。そこで本研究では、この偏光光学系を採用したエネルギー分散型蛍光 X 線分析装置を用いて、野菜に含まれる多元素の迅速な分析法と有害重金属のより簡易な定量法を確立することを試みた。

蛍光 X 線分析法は、広い濃度範囲にわたる多元素の定量が可能であり、一般的に精度の高い測定法であるが、試料から発生する蛍光 X 線の強度は、共存元素、特に主成分元素の影響を受けやすく、また、試料表面の状態の影響も受けやすい。そこで、定量値を正確に算出するためには、化学組成や表面の状態が類似した濃度既知の標準試料を用いた検量線法を用いることが望ましいとされる。しかし、現状では、野菜試料分析に適した標準試料は十分整備されているとはいえない。そこで本研究では、ファンダメンタルパラメーター (FP) 法による定量法、及び数種の植物標準物質を用いて作成した検量線による定量法について検討を加えた。また、試料の調製法についても検討することで、迅速・簡便で正確な野菜中の無機元素の定量法を開発を目指した。分析値の妥当性の評価は、同一試料を酸分

¹ 東京理科大学理学部応用化学科: 162-8601 東京都新宿区神楽坂 1-3

² スペクトリス株式会社 PANalytical 事業部: 105-0013 東京都港区浜松町 1-7-3

解により溶液化し ICP-AES/MS による分析を行い、分析結果をクロスチェックすることで行った。更に、群馬県と岐阜県のハウレンソウ試料を 20 種分析し、微量無機元素組成による産地判別の可能性について検証した。

2 実 験

2.1 装 置

本研究では、三次元偏光光学系エネルギー分散型蛍光 X 線分析装置 Epsilon 5 (PANalytical 製) を使用した。本装置の光学系は、3 つの直行する軸上に配置した X 線源、二次ターゲット、試料、検出器から構成されるカルテシアン配置を採用している。偏光を利用することで、試料からの散乱 X 線を排除できるため S/N 比が向上する¹³⁾。更に、二次ターゲット材の選択により、元素によって異なる最適な励起エネルギーを選択し、散乱 X 線も軽減できることから、目的元素に応じて個々の感度を向上できる。二次ターゲットとして、10 個の二次ターゲット材 (Al_2O_3 , Ag, Mo, Zr, Ge, Fe, Ti, Al, CsI, Rh) が搭載されている中から、最適なターゲットを選択した。また、本装置では、最大出力 600 W、管電圧 100 kV のガドリニウム管球によって高エネルギーの励起 X 線を発生させることができるので、重元素の K 線励起に特に有効である。更に、検出器は高エネルギー X 線に対しても高い検出効率を有する液体窒素冷却半導体ゲルマニウム検出器を搭載している。これらの特徴により本装置は高感度な分析が可能となっている。測定に際しては、付属の自動試料交換装置による試料導入ができることから、長時間の測定や夜間の連続測定も容易に行えることも利点である。

2.2 野菜試料及び試料調製法

前述したように、試料から発生する蛍光 X 線強度は、共存する主成分元素による吸収等の影響を受けやすい。このため、野菜の XRF 分析に用いる検量線の作成には、マトリックスが類似している植物の標準物質 SRM 1570a Spinach Leaves, SRM 1515 Apple Leaves, SRM 1573a Tomato Leaves (National Institute of Standards and Technology, NIST), CRM No.1 リヨウブ (国立環境研究所, NIES) を選択して用いた。

また、実試料には群馬県産と岐阜県産のハウレンソウをそれぞれ 10 試料用いた。両県は、関東・関西に流通するハウレンソウの主要な産地であり、ほぼ 1 年を通してハウレンソウの供給を行っている。また、群馬県と岐阜県とは、気候の差が比較的小さいため近い品種が栽培されることが多いとされる。そのため、本研究では産地をこの二つの地域に絞ってハウレンソウを購入し、元素組成の地域差を検討する試料とした。なお、いずれの試料も 2006 年 9 月から 2007 年 3 月の間に小売店で購入したものである。

ハウレンソウは茎を取り除き、水道水、イオン交換水、超純水 (MILLIPORE 製純水製造装置 Direct-Q で精製した Mill-Q 水) で順次洗浄し、水分をキムワイプでふき取った後 85℃ の乾燥器で 4 時間乾燥させた。乾燥した試料を粉砕器 (National 製家庭用臼式お茶粉砕器 EU6820) により約 15 μm に粉砕して均一にし、蛍光 X 線分析及び ICP-AES/MS 測定の分析用試料とした。

蛍光 X 線分析用の試料は以下のように作製した。粉砕した分析用試料の一部を再度 85℃ で 4 時間乾燥させ、デシケーター内で 30 分間放冷後にひょう量し、3 tonf/cm² で 2 分間加圧成型した。蛍光 X 線分析は非破壊で測定できることから、固体試料をそのまま測定することも可能である。しかし、一般的に蛍光 X 線分析では、試料の形状により蛍光 X 線強度に違いが出ることが知られている¹⁴⁾。また、微量元素の定量においては、より高い蛍光 X 線強度と安定性が必要となるため錠剤化することを検討した。一方、装置の検出部では試料面上の 13~15 mm ϕ からの蛍光 X 線が検出器に入ることから、試料径としては検出部を十分に覆う 20 mm ϕ が安定した強度が得られると考えられる。よって、本研究では、試料を 20 mm ϕ に錠剤化して測定に供した。励起 X 線の侵入深さは、重元素が主成分であるほど浅く、軽元素が主成分となる試料ほど深くなる。そのため、植物のような軽元素が主成分の試料では、適切な試料厚みを選択する必要がある。そこで、試料量を 100 mg から 800 mg にわたって錠剤の厚みを変化させて測定値の比較を行った。この錠剤試料を 4 μm 厚のプロレン膜で挟み込み、プラスチックのカップに入れて固定して分析に供した。

2.3 測定条件の検討

微量元素を高感度に検出するため、主に標準物質 SRM 1570a を用いて以下のような測定条件の最適化を行った。蛍光 X 線分析では、照射 X 線のエネルギーが分析対象元素の X 線吸収端よりやや高エネルギー側にあるとき、励起効率が高い。そこで、最適な励起効率となるように、二次ターゲットを 10 個のターゲット材 (Al_2O_3 , Ag, Mo, Zr, Ge, Fe, Ti, Al, CsI, Rh) の中から選択した。測定に用いるターゲット材の種類が多いと、1 試料を分析するために必要な総測定時間が長くなるので、各ターゲット材を用いたときに得られる対象元素の蛍光 X 線のピーク強度、 S/N 比を確認しながら効率を考慮して数種類のターゲット材を選択した。また、測定時間を長くすると一般的に S/N 比が向上することから、実試料の微量元素を定量する際に必要な測定時間について 50~10800 秒の間で検討した。

最適化した測定条件を用いて、標準物質 SRM 1570a を測定し、最小検出下限 (lower limit of detection, LLD) (ppm)

を次式で計算した.

$$LLD = 3 \frac{C}{I_{Net}} \sqrt{\frac{I_{BG}}{t}} \quad (1)$$

ここで, C : 化学分析値・認証値 (ppm), I_{Net} : ピーク強度 (cps), I_{BG} : バックグラウンド強度 (cps), t : 測定時間 (s) である.

2・4 FP 法と検量線法による試料中無機元素定量値の比較

XRF 分析では, FP 法により標準物質がなくても各元素の定量値を算出することができる. しかし, 各元素の含有量が既知であり, かつ分析対象試料に組成の近い標準物質を用意できる場合は, その標準物質を用いてマトリックス効果を補正した感度係数を算出し, FP 法による定量分析を行えば, 装置に内蔵されている感度係数を用いる場合よりも定量値の確度の向上が期待できる¹⁴⁾. そこで, 本研究で FP 法による各元素の定量の際, 装置に内蔵されている感度係数を用いた定量と, 実試料と組成の近い SRM 1570a Spinach Leaves の測定から算出した感度係数を用いた場合について, 定量値の比較を行った.

一方, 分析対象とするホウレンソウと類似したマトリックスである植物標準物質 SRM 1570a, SRM 1515, SRM 1573a, CRM No.1 を用いて検量線を作成し, 各元素の濃度を算出した. 標準物質の認証値がない Cl, Br, Y に対しては検量線用の標準物質について FP 法であらかじめ算出した分析値を認証値の代わりに使用した. 標準物質の XRF 測定の際には, ホウレンソウ試料と同様に錠剤成型して分析に供した. 実試料の分析では, この検量線を用いて群馬産及び岐阜産のホウレンソウ試料中の無機元素組成の定量を行った.

2・5 ホウレンソウ試料の ICP-AES/MS による定量値のクロスチェック

分析値のクロスチェックのため, ホウレンソウ試料を ICP-AES/MS 分析に供した. ICP-AES/MS 測定では, 試料は下記のような酸分解処理を行った. まず乾燥した分析試料 100 mg を精ひょうし, テフロンチューブに入れ, 濃硝酸 (63%, 関東化学製) 1 mL を添加し, 一晚予備分解を行った後, 濃硝酸 0.8 mL を加え段階的に温度を上げて加熱分解を行った. 硝酸だけの分解では, 植物内のケイ酸質が分解されないため¹⁵⁾, 0.4 mL のフッ化水素酸 (50%, ステラケミファ製) を加えて加熱分解を続け, 測定時にフッ化水素酸が試料溶液に残らないよう, 濃硝酸 0.4 mL で 3 回蒸発乾固を繰り返した. 次に, 1 M 硝酸で定容後, 0.45 μ m 孔のポリテトラフルオロエチレン (PTFE) フィ

ルターで汙過し, 更に内標準溶液を加え適宜希釈して試料溶液とした.

ICP-AES は, JY70C (Jobin Yvon 製) を用いた. 測定した元素と用いた波長は, Na (589.6 nm), Mg (279.2 nm), K (766.5 nm), Ca (393.4 nm), Mn (257.6 nm), Fe (238.2 nm), Zn (213.8 nm) で Y (224.3 nm) を内標準とした. プラズマ条件は, RF パワー 1.0 kW, プラズマガス Ar 12 L/min, ネブライザーガス Ar 0.2 L/min である. ICP-MS は, Agilent 7500c (横河アナリティカルシステムズ製) を使用し, 測定した元素 (m/z) は Cu(63), Rb(85), Sr(88), Cd(111) で, Ge(72), In(115), Tl(205) を内標準として用いた. プラズマ条件は, RF パワー 1.4 kW, プラズマガス Ar 14 L/min, ネブライザーガス Ar 0.96 L/min である. 試料前処理, 測定法の正確さについては, 標準物質 SRM 1570a Spinach Leaves を用いて検証した.

2・6 多変量解析を用いた産地の異なるホウレンソウ試料の多元素組成の比較

群馬県産及び岐阜県産のホウレンソウ試料について元素組成の特徴を明らかにするために, 多元素の定量値を用いて多変量解析を行った. 分析した元素のうち, 特徴的なものを用いて主成分分析を行った. また, 様々な元素の組み合わせでクラスター分析を行い, 群馬産と岐阜産の試料を明確に判別するための指標元素について検討した. 統計処理には, Stat Partner ver. 2.0 (NEC ソフトウェア製) を用いた.

2・7 Cd の簡易検査への応用

前述したように, コーデックス委員会では, Cd の基準値を葉菜では新鮮重量当たり 0.2 ppm 以下と定めている. ホウレンソウは重量の約 90% が水分である (文献値: 92.4%¹⁶⁾) ことから, 乾燥重量当たりの濃度で換算すれば, 新鮮重量の約 10 倍程度になると試算される. つまり, 乾燥試料では 2 ppm を下回っていれば基準値内であろうという予測が可能と考えられる. そこで, Cd の認証値が 1.48 ppm である SRM 1573a Tomato Leaves を用いて, 試料量, 測定時間の検討を行い, 微量 Cd の迅速な分析が可能であるかどうか検証した.

3 結果と考察

3・1 二次ターゲットの検討

10 個の二次ターゲット (Al_2O_3 , Ag, Mo, Zr, Ge, Fe, Ti, Al, CsI, Rh) を用いて標準試料の蛍光 X 線スペクトルを測定し, 得られたスペクトルにおいてピークが十分に検出できることを確認しながら, 総測定時間との兼ね合いをみて二次ターゲットの選択を行った. 例えば, ホウレン

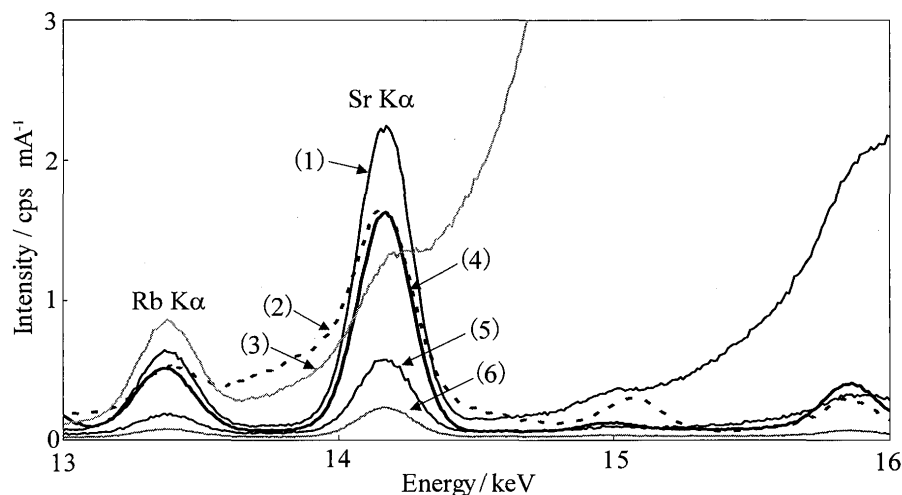


Fig. 1 Effect of the secondary target on the Sr K α -line spectra of NIST SRM 1570a Spinach Leaves

Measurement time: 1800 s; (1) Mo target; (2) Ag target; (3) Zr target; (4) Rh target; (5) CsI target; (6) Al₂O₃ target

Table 1 Measurement conditions for XRF analysis of spinach leave

Secondary target	Voltage/kV	Current/mA	Elements determined
Ti	40	15	Mg, Al, P, S, Cl, K, Ca
Ge	75	8	Mn, Fe, Ni, Cu, Zn
Mo	100	6	Br, Rb, Sr, Y
Al ₂ O ₃	100	6	Mo, Cd, Ba

ソウ (SRM 1570a) 中の Sr は、Mo ターゲット、Ag ターゲット、Rh ターゲット、Zr ターゲット、CsI ターゲット、Al₂O₃ ターゲットのいずれを用いても検出できたが、Fig. 1 に示すように、スペクトルの比較を行うと、Mo ターゲットを用いたときが最も S/N 比が良く、かつピーク強度が高いため、Sr 測定に最適な二次ターゲットは Mo であると判断した。また、二次ターゲット材の特性 X 線ではなく主として散乱線を励起源として利用するバックラーターゲットである Al₂O₃ を用いると、Fig. 1 に示したエネルギー領域には二次ターゲット由来の特性 X 線がないためバックグラウンドが低下し、蛍光 X 線強度は低いものの S/N 比は良く、Mo、Cd、Ba の測定の二次ターゲットに適していると判断できた。以上のような検討を重ねた結果、本研究では二次ターゲットに Ti、Ge、Mo、Al₂O₃ を用いることとし、励起電圧、管電流、対象元素はターゲットごとに Table 1 のように設定した。

3.2 試料形状の検討

100～800 mg の SRM 1570a Spinach Leaves を用いて 20 mmφ の錠剤を成型し、試料量の検討を行った。同一成型

条件で錠剤を作製したところ、200 mg 以下では試料量が少なく錠剤が欠けてしまい測定に用いることができなかった。300 mg 以上を用いた錠剤試料を測定した結果、試料量が増える、つまり錠剤の厚みが増すにつれ、蛍光 X 線強度はピーク、バックグラウンド共に増大した。特にこれは Br、Rb、Sr、Mo、Cd、Ba などの重元素で顕著であった。このような試料厚みが分析値へ及ぼす影響を除去するため、散乱線による蛍光 X 線強度の補正を検討した。二次ターゲットを利用している本測定ではターゲット材質由来のコンプトン散乱線が測定されるため、これを用いて各元素について補正を行った。二次ターゲットのうち Al₂O₃ ターゲットについてはターゲット由来のコンプトン散乱が検出されないため、このターゲットを用いる Mo、Cd、Ba の測定に関しては、各元素のバックグラウンド強度による補正を行った。これらのコンプトン散乱線あるいはバックグラウンド強度で補正した規格化強度は、試料量にかかわらずほぼ一定の値を示したことから、この補正法が有効であることが分かった。実試料の測定を考えると、試料の使用量はできる限り少量で、かつ錠剤成型ができる量であることが望ましいため、以後の測定では、乾燥重量 300 mg (厚さ約 0.95 mm) を採用して試料調製を行い、また得られた蛍光 X 線強度に対して散乱線強度による補正を加え、データ解析を行った。

3.3 測定時間の検討

調製したハウレンソウの錠剤試料を測定したところ、測定条件が 50 秒程度の短時間の測定でも試料に比較的多く含まれる K、Fe、Sr 等の分析は可能であった。しかし、微量元素については、測定時間を長くすることで、各元素

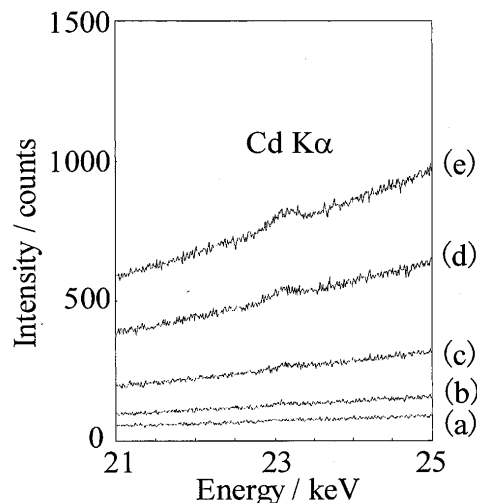


Fig. 2 Effect of counting times on the Cd K α -line spectra of spinach leaves (Gunma) measured using Al₂O₃ (Barkla) secondary target

Measurement time: (a) 1000 s, (b) 1800 s, (c) 3600 s, (d) 7200 s, (e) 10800 s

のピークについて S/N 比が向上し, より低濃度まで確実に定量できることが期待された。そこで, 1000, 1800, 3600, 7200, 10800 秒と測定時間を変化させ, ホウレンソウに 0.1 ~ 数 ppm レベルで含まれる Mo や Cd のピークが判別できるかを検討した。その結果の一例を Fig. 2 に示す。7200 秒の測定時には Cd (試料: Gu4, Cd 含有量 0.97 ppm) のピークをはっきりと識別できる程度の S/N 比となることが分かった。よって, より微量な元素を定量することを目的とした本研究では, 自動試料交換装置を活用した長時間測定を採用し, 検量線法による定量分析では各二次ターゲットにつき測定時間を 7200 秒とした。一方, FP 法では各二次ターゲットにつき 600 秒で測定を行った。

SRM 1570a Spinach Leaves を検量線法で 7200 秒の測定を行ったときの検出下限を式 (1) により算出した結果, K で 1.27 ppm, Ca で 2.09 ppm, Zn で 50 ppb, 重元素の Sr で 40 ppb, Cd で 190 ppb となり, 重元素についてサブ ppm レベルの定量分析を行うことができることが分かった。

3.4 検量線の作成

4 つの植物標準物質の認証値と測定して得られた規格化強度を用いて各元素の検量線を作成した。その結果, Al, P, S, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Rb, Sr, Cd, Ba の 14 元素で良好な直線性 ($R^2 = 0.93 \sim 1$) を示した。しかし, Mg のような軽元素や, Mo といった極微量元素では, Mg で $R^2 = 0.8723$, Mo で $R^2 = 0.7796$ であり, 検量線法による定量には更なる検討が必要である。一方, Cl, Br, Y は XRF 測定で検出されたが, 標準物質の認証値が

ないために検量線が作成できない。そこで, ある程度の濃度で, 今回用いた 4 種の標準物質すべてに含まれている Cl と Br に関しては, FP 法で算出した値を参考値として用いて検量線を作成した。Y に関しては, SRM 1570a 以外の植物標準物質の定量値が得られなかったため, 検量線の作成はできなかった。

3.5 定量値の信頼性の確認

SRM 1570a Spinach Leaves を測定し, 装置に内蔵されている感度係数を用いた FP 法, 植物試料を測定して算出した感度係数を用いた FP 法, 及び検量線法で各元素を定量した結果を Table 2 に示す。Mg, Al などの軽元素では認証値とのずれが大きいため, 今後検討する必要がある。また, 装置内蔵の感度係数を使用した FP 法と, 植物試料を用いて算出した感度係数を使用した FP 法とを比較すると, 一般に後者のほうがより認証値に近い値となっている。マトリックスを一致させた感度係数を活用することで, より正確な分析結果が得られることが分かる。一方, 検量線法では, 測定時間を 7200 秒と長くしたこともあり, より認証値に近い値が得られた。

次に SRM 1570a Spinach Leaves を ICP-AES/MS 分析した結果を認証値と比較して Table 3 に示した。SRM 1570a の認証値と ICP-AES/MS の分析結果のズレ (D) は以下の式 (2) により求めた。

$$D (\%) = \frac{[M]_{\text{measured}} - [M]_{\text{certified}}}{[M]_{\text{certified}}} \times 100 \quad (2)$$

ここで, $[M]_{\text{measured}}$ は分析で得られた元素濃度, $[M]_{\text{certified}}$ は認証値あるいは参考値, 文献値を示す。Zn と Cd において認証値とのズレが -6 から -8% とやや大きいものの, 他の元素では認証値とよく一致していることから, 試料の前処理法及び ICP 分析の信頼性を確認した。

次に, 群馬県産のハウレンソウの XRF の検量線法による分析結果と ICP-AES/MS による分析結果を比較すると, Table 4 に見られるように, すべての元素でほぼ一致した結果が得られている。以上より, 本研究で確立した蛍光 X 線分析法により, ホウレンソウの微量元素の定量が可能であることが分かった。Sr の場合には, やや両者にズレが見られるのは, XRF 測定で作成した Sr の検量線に対して, このハウレンソウ試料における Sr は検量線の濃度範囲外であったこと, 試料濃度が低いため蛍光 X 線強度の算出時にバックグラウンドを引く際のズレが生じやすいことなどが原因であろう。今後, 検量線用の試料を増やすことで, 低濃度試料に対してもより正確な値を得ることが期待できる。

Table 2 Comparison of the measured and certified values ($\mu\text{g g}^{-1}$) for NIST SRM 1570a

Element	FP (Instrumental) ^{a)}	FP (Experimental) ^{b)}	Calibration curve	Certified value
Mg	4950	n.d. ^{c)}	6650	[8900] ^{d)}
Al	489	3450	343	310 $\pm$ 11
P	4310	4160	5080	5180 $\pm$ 110
S	3870	4070	4310	[4600] ^{d)}
Cl	6510	8400	7160	none
K	25100	28810	26800	29000 $\pm$ 520
Ca	12900	15340	14300	15300 $\pm$ 410
Mn	73.1	74.6	80.9	75.9 $\pm$ 1.9
Fe	261	278	271	(275) ^{e)}
Ni	1.2	1.89	2.25	2.14 $\pm$ 0.1
Cu	17	11.7	13.5	12.2 $\pm$ 0.6
Zn	84	78	81	82 $\pm$ 3
Br	37.6	54.8	47.6	none
Rb	12	12.2	16.6	[13] ^{d)}
Sr	58.3	43.0	54.4	55.6 $\pm$ 0.8
Y	0.52	0.58	n.d. ^{c)}	none
Mo	1.29	0.48	0.37	(0.38) ^{e)}
Cd	4.11	3.20	2.82	2.89 $\pm$ 0.07
Ba	28.3	7.36	10.53	(7.43) ^{e)}

a) Sensitivity coefficients supplied by the manufacturer of the instrument. b) Sensitivity coefficients measured by using a plant sample. c) n.d. = not determined. d) NIST Reference values. e) Literature data⁹⁾

Table 3 Comparison of the certified value and the measured values for SRM 1570a obtained by using ICP-AES/MS

Element	ICP-AES/MS		Certified value/ $\mu\text{g g}^{-1}$
	Concentration/ $\mu\text{g g}^{-1}$	Deviation ^{a)} , %	
Mg	9000	1.1	[8900] ^{b)}
K	28300	-2.4	29000 $\pm$ 520
Ca	15100	-1.3	15300 $\pm$ 410
Mn	76.9	1.3	75.9 $\pm$ 1.9
Fe	276	1.1	(275) ^{c)}
Zn	75.6	-7.8	82 $\pm$ 3
Cu	11.7	-4.1	12.2 $\pm$ 0.6
Rb	13.2	1.5	[13] ^{b)}
Sr	56.9	2.3	55.6 $\pm$ 0.8
Cd	2.7	-6.3	2.89 $\pm$ 0.07

a) Deviation was calculated by the following equation. Deviation/% = $([\text{M}]_{\text{measured}} - [\text{M}]_{\text{certified}}) / [\text{M}]_{\text{certified}} \times 100$. b) NIST Reference values. c) Literature data⁹⁾

Table 4 Comparison of elemental concentrations ($\mu\text{g g}^{-1}$) obtained by ICP-AES/MS and XRF^{a)}

Element	ICP-AES/MS	XRF
Mg	13500	13800
K	71400	80500
Ca	7570	7700
Mn	58.8	61.2
Fe	131	118
Zn	118	117
Cu	15.5	17.3
Rb	36.5	34.8
Sr	9.0	7.2
Cd	0.9	1.0

Sample: Spinach leaves from Gunma prefecture (Sample No.: Gu8)

a) Determined by calibration curve method.

3・6 産地判別への応用

上述のように、最適化した分析条件で岐阜県産 (Gi1 ~ Gi10) 及び群馬県産 (Gu1 ~ Gu10) のホウレンソウ各 10 点について検量線法で定量した結果を、各元素の中央値 (Median) と合せて Table 5 に示した。各元素の定量値は乾燥重量当たりで算出している。いずれの試料においても 17 元素の定量値を得ることができた。群馬県産と岐阜県産の試料を比較したところ、Ca, Zn, Br, Rb, Mo, Ba といった元素で、産地による元素濃度の違いが見られることが分かった。

このうち、最も両者の差が認められた Ba の濃度を比較すると、岐阜県産では中央値が 7.21 ppm、群馬県産では 3.26 ppm であり、岐阜県産のほうが濃度の高い傾向が認

Table 5 XRF analytical results ($\mu\text{g g}^{-1}$) for spinach leaves from two different localities

(a) Samples from Gifu prefecture

Sample No.	Mg	Al	P	S	Cl	K	Ca	Mn	Fe	Cu	Zn	Br	Rb	Sr	Mo	Cd	Ba
Gi1	11100	441	7480	5070	5400	49800	13100	52.7	133	16.9	102	38	26.9	23.4	0.41	1.68	8.83
Gi2	5800	309	7840	4780	1700	82900	8500	65.7	180	12.5	90	47	32.2	2.7	0.84	0.99	4.97
Gi3	14200	595	9520	5370	8200	76000	12200	33.4	104	14.2	65	75	25.1	6.5	0.95	0.84	8.96
Gi4	4500	304	6860	4010	5600	73400	11700	34.7	133	13.9	74	59	17.5	10.0	0.61	0.60	11.5
Gi5	5500	333	7500	3980	3900	93100	9600	72.9	188	12.0	69	52	16.6	4.4	0.62	0.60	4.68
Gi6	16500	726	9600	4790	6000	101000	11400	32.1	111	8.27	40	78	13.4	9.0	0.55	0.64	3.85
Gi7	12200	589	9180	4540	4100	73000	14300	66.4	207	9.61	41	32	13.6	17.9	0.58	0.78	7.93
Gi8	10900	552	9320	4710	3700	69000	11100	31.8	101	14.0	57	25	16.2	4.6	0.67	0.60	6.49
Gi9	12700	584	7010	3820	14500	71200	11900	27.3	104	9.06	37	121	11.5	8.6	0.56	0.71	4.83
Gi10	17800	765	11430	4260	7300	109000	12200	46.8	198	10.9	46	44	17.2	12.5	0.84	0.44	8.15
Median	11650	568	8510	4625	5500	74700	11800	40.8	133	12.3	61	50	16.9	8.8	0.62	0.68	7.21

(b) Samples from Gunma prefecture

Sample No.	Mg	Al	P	S	Cl	K	Ca	Mn	Fe	Cu	Zn	Br	Rb	Sr	Mo	Cd	Ba
Gu1	7100	336	6610	4170	6800	88700	7500	66.6	108	17.4	142	692	50.2	6.8	2.59	1.02	3.27
Gu2	15800	694	13630	6260	8100	96400	10600	105	158	13.1	180	58	35.8	11.2	1.07	1.16	4.78
Gu3	11400	477	9590	4150	3000	56800	12400	29.2	136	11.7	74	50	54.6	26.1	0.85	1.55	4.26
Gu4	8100	418	10060	3920	6500	124000	10800	78.6	92	18.4	169	95	39.1	10.1	0.75	0.97	3.51
Gu5	8200	395	13020	5310	1700	124000	6500	181	128	12.2	296	43	54.8	4.8	0.53	0.80	2.88
Gu6	7700	391	7140	4280	4400	111000	8700	52.9	102	13.3	92	261	53.6	7.8	1.39	0.42	3.20
Gu7	16100	703	9810	5080	5900	102000	7000	38.6	104	13.2	116	347	41.1	12.7	0.8	0.41	3.13
Gu8	13800	591	9530	4340	6800	80500	7700	61.2	118	17.3	117	320	34.8	7.2	0.94	1.00	3.25
Gu9	9900	472	6610	4870	4300	57900	8600	42.3	136	17.8	104	76	25.3	4.0	2.1	0.66	3.83
Gu10	10400	480	8590	4680	1600	63200	5800	29.7	108	11.6	91	20	41.2	4.1	1.07	0.19	2.94
Median	10150	475	9560	4510	5150	92550	8150	57.1	113	13.3	117	86	41.2	7.5	1.01	0.88	3.26

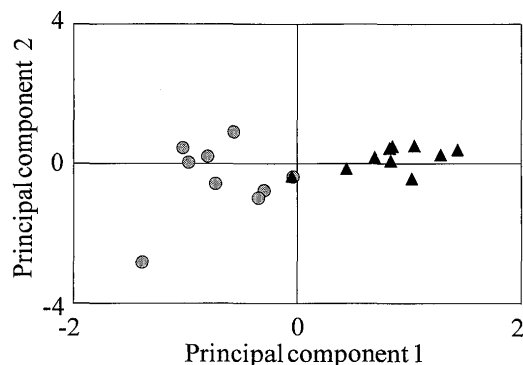


Fig. 3 A plot of principal component analysis based on the analytical data of 6 elements (Ca, Zn, Br, Rb, Mo, Ba) for spinach leaves from Gunma and Gifu (each 10 samples) showing distinct difference of the sample locality

●: Gunma; ▲: Gifu

められた。産業技術総合研究所地質調査総合センターがまとめた日本の土壌の Ba 濃度は、岐阜県では全般的に高く、群馬県では低いという傾向が示されており¹⁷⁾、本研究で測定したホウレンソウの濃度と良い対応が見られる。このことから、野菜が土壌の微量元素の組成情報を反映している様子が示唆される。更に、定量値の得られた 17 元素の中で、特に産地による濃度の違いがみられた Ca, Zn, Br, Rb, Mo, Ba の定量値を用いて、主成分分析を行った結果を Fig. 3 に示す。群馬県産と岐阜県産が明確に異なる分布を示すことが分かる。一方、群馬県産と岐阜県産の産地判別に有効な元素を抽出するため、元素の数と組み合わせを変えて、それぞれクラスター分析を行った。その結果、S, K, Ca, Mn, Cu, Zn, Br, Rb, Mo, Ba を用いたとき、群馬県産と岐阜県産が良好に分離した。ICP-AES/MS で分析した多元素組成情報を用いる食品の産地判別^{11)~6)}が報告されているが、本研究により、XRF 分析で算出した定量値を用いる産地判別の可能性が示唆された。多元素組成から産地判別を行うためには、既に産地の分かっている試料の分析データを用いてモデルを構築し、そのモデルにより未知試料を判別する線形判別分析 (LDA) を用いることが多い¹⁸⁾。そのためには、各グループにおいて統計分布を仮定するため、多くのデータを必要とする。LDA においてモデリングに用いる試料数に比べて変数 (元素数) が多く、モデルが複雑になるほど未知試料を予測した際に誤判別しやすくなるため、変数はモデリングに用いた試料数の 1/3 以下に収めることが望ましいとされている。つまり LDA で産地判別を行うためには、グループ間で有意差が見られた元素数の 3 倍以上程度の試料数が必要とされることになる。蛍光 X 線分析は試料調製が容易であることから、多数の試料を分析する必要がある産地判別に適した手法となるであろう。今後、試料数を増やし、更に多

元素の情報を比較することで、産地判別の信頼度が向上することが期待できる。

3.7 Cd の簡易検査への応用

3.3 で述べたように、本研究で求めた最適分析条件では、Cd の最小検出限界濃度は 190 ppb であり、コーデックス委員会が定めた規制値から想定される乾燥重量当たりの濃度約 2 ppm は十分に定量可能であると言える。しかし、蛍光 X 線分析による Cd 濃度のスクリーニングとしては、7200 秒の測定時間は長すぎる。そこで、Cd の認証値が 1.54 ppm である SRM 1573a Tomato Leaves を用いて測定条件を検討した。その結果、試料量を 1 g とすれば、測定時間が 1800 秒でも検出が可能であったことから、実用的で簡便な定量法になるといえる。また、装置に 1 次フィルターを取り付けることで Cd ピークの S/N 比の更なる向上が見込める¹⁰⁾¹⁹⁾ため、Zr フィルターなどを用いるとより短時間の分析も可能であろう。

4 結 言

エネルギー分散型蛍光 X 線分析装置を用いた簡易な前処理で高感度に野菜中の微量元素を定量する手法の開発を行った。今回定量を検討した 19 元素に対して、Ti, Ge, Mo, Al₂O₃ の 4 つの二次ターゲットを選択することで、各元素を効率よく励起することができ、サブ ppm レベルの重元素の定量を行えることが分かった。数種類の植物標準物質を用いて作成した検量線を用いることで、定量性のよい分析が実現した。また、標準物質の認証値がない元素についても FP 法を用いて定量が可能であり、その際にはマトリックスの類似した試料を用いて算出した感度係数を用いることで、より信頼性のある分析値が得られることが分かった。なお、軽元素や 0.01 ppm レベルの極微量元素の分析では、検量線の直線性や定量性に改良すべき点が見られたが、今後更に 1 次フィルターの使用や、蛍光 X 線強度補正法、検量線作成用の標準物質を検討することで、改善されることが期待できる。

本法を用いて群馬県産と岐阜県産のホウレンソウを分析し、その組成を比較したところ、数元素で含有量の地域差が見られ、XRF 分析で求めた多元素の組成情報から産地判別を行える可能性が示唆された。本法では、熟練した分析技術や化学実験室が不要であることから迅速・簡便で、野菜の生産地におけるその場分析の可能性を開いたといえる。また、野菜に含まれる微量の Cd の定量に有効であることから、今後は農産物の安全性を保障するための分析法としても、幅広く活用されることが期待される。

本研究で求めたホウレンソウ試料の分析値について議論していただき、また多変量解析についてアドバイスをいただいた独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構食品総合研究所の安井明美博士に感謝します。

(2007 年 5 月, 日本分析化学会第 68 回分析化学討論会において一部発表)

文 献

- 1) 安井明美, 遠藤久美子: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **49**, 405 (2000).
- 2) K. Ariyama, H. Horita, A. Yasui: *J. Agric. Food Chem.*, **52**, 5803 (2004).
- 3) A. Marcos, A. Fisher, G. Rea, S. J. Hill: *J. Anal. At. Spectrom.*, **13**, 521 (1998).
- 4) A. L. Perez, B. W. Smith, K. A. Anderson: *J. Agric. Food Chem.*, **54**, 4506 (2006).
- 5) K. Ariyama, Y. Aoyama, A. Mochizuki, Y. Homura, M. Kadokura, A. Yasui: *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 347 (2007).
- 6) P. P. Coetzee, F. E. Steffens, R. J. Eiselen, O. P. Augustyn, L. Balcaen, F. Vanhaecke: *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 5060 (2005).
- 7) L. Sauvage, D. Frank, J. Stearne, M. B. Millikan: *Anal. Chim. Acta*, **458**, 223 (2002).
- 8) C. Marisa, R. Almeda, M. Teresa, S. D. Vansconcelos: *J. Agric. Food Chem.*, **51**, 4788 (2003).
- 9) J. Sucharova, I. Suchara: *Anal. Chim. Acta*, **576**, 163 (2006).
- 10) E. Margui, R. Padilla, M. Hidalgo, I. Queralt, R. Van Grieken: *X-Ray Spectrom.*, **35**, 169 (2006).
- 11) W. E. Stephens, A. Calder: *Anal. Chim. Acta*, **527**, 89 (2004).
- 12) 永山裕之, 小沼亮子, 保倉明子, 中井 泉, 松田賢士, 水平 学, 赤井孝夫: X 線分析の進歩, **36**, 235 (2005).
- 13) 水平 学: 色材協会誌, **80** (5), 210 (2007).
- 14) J. Omote, H. Kohno, K. Toda: *Anal. Chim. Acta*, **307**, 117 (1995).
- 15) 保倉明子, 小栗佐和子, 松浦博孝, 原口紘矢: 分析化学 (*Bunseki Kagaku*), **49**, 387 (2000).
- 16) 科学技術庁資源調査委員会編: “五訂増補日本食品標準成分表”, (2005).
- 17) “日本の地球化学図”, (産業技術総合研究所地質調査総合センター) < <http://riodb.ibase.aist.go.jp/geochemmap/index.htm> >, (accessed 2005.7.1).
- 18) 有山 薫: “食品分析法の妥当性確認ハンドブック”, p. 253 (2007), (サイエンスフォーラム).
- 19) 箭田佐衣子, 川崎 晃, 松田賢士, 水平 学, 織田久男: 日本土壌肥料科学雑誌, **77**, 165 (2006).

High-Sensitive Determination of Inorganic Elements in Spinach Leaves by X-Ray Fluorescence Analysis and Its Application to Identification of Their Production Area

Yoko YANADA¹, Akiko HOKURA¹, Kenji MATSUDA², Manabu MIZUHIRA² and Izumi NAKAI¹

¹ Department of Applied Chemistry, Faculty of Science, Tokyo University of Science, 1-3, Kagurazaka, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8601

² PANalytical Division, Spectris Corporation, 1-7-3, Hamamatsucyo, Minato-ku, Tokyo 105-0013

(Received 24 July 2007, Accepted 11 October 2007)

An X-ray fluorescence (XRF) technique has been developed for analyses of trace elements in vegetables utilizing an energy-dispersive XRF spectrometer equipped with 3-dimensional polarization optics and secondary targets. Quantitative analyses were optimized with the calibration-curve method and the FP method based on the XRF intensity, normalized by that of Compton scattering. Various trace elements in spinach leaves grown at two major production sites, Gifu and Gunma prefectures, Japan, were successfully quantified by an easy sample-preparation technique over a wide concentration range from a few wt% (e.g. K and Ca) to sub-ppm (e.g. Cd and Ba) level. It was possible to clearly characterize the production locality of the spinach by statistical analysis of the trace characteristic elements, such as Ca, Zn, Br, Rb, Mo, and Ba. In addition, it was found that this XRF technique is suitable for rapid and easy screening analysis of Cd in vegetables at their production sites for the environmental regulation requirements.

Keywords : food analysis; environmental regulation; trace element analysis; spinach leaves; provenance analysis.