

資料 4 - 3

第 2 版

# 食品中の食品添加物分析法

2 0 0 0

厚生省生活衛生局食品化学課

## 97 臭素酸カリウム

Potassium Bromate

$\text{KBrO}_3$  : 167.00

### 1. 試験法の概要

パン中の臭素酸カリウムは、臭素酸イオンを液体クロマトグラフィーにより分離後、ポストカラム法により *o*-ジアニシジンと反応発色させ定量する<sup>1)</sup>。必要があれば分子量比を乗じて臭素酸カリウムとしての量を求める。

### 2. 試験法 (液体クロマトグラフィー)

#### (1) 検体の採取と試料の調製

一般試料採取法を準用する。

#### (2) 試料液の調製

試料を粉碎してその 10.0g を正確に量り、水 50ml を加えて 30 分間かくはんする。約 5 分間静置後、その上清を 5°C で約 10,000×g で 30 分間遠沈する。上清をろ紙 (No.5A) でろ過後、その 5ml をディスクポータブルフィルター、固相抽出カートリッジカラム、銀カートリッジカラム<sup>2)</sup> をこの順番で直列に接続したものに負荷する。初流液約 1ml を捨て、その後の流出液約 3ml を限外ろ過カートリッジカラムに負荷し、流出液を陽イオン交換カートリッジカラムに負荷する。流出液約 1ml を捨て、その後の流出液を液体クロマトグラフィー用試料液とする。

#### (3) 検量線用標準液の調製

臭素酸カリウム 129.5mg を正確に量り、水を加えて溶かし正確に 100ml とする。この液 1ml を採り、水を加えて 100ml とする。更に、この希釈した液 10ml を採り、水を加えて 100ml とする。この液 0.1~10ml を採り、水を加えて 100ml とし検量線用標準液とする (この液 1ml は臭素酸 1~100ng を含む)。

#### (4) 測定法

##### ① 測定条件

ポストカラム反応装置を備えた可視部吸収検出器付液体クロマトグラフを用い、次の条件によって測定する。

検出器：紫外部吸収検出器

カラム充てん剤<sup>3)</sup>：オクタデシルシリル化シリカゲル

カラム管：内径 4.6mm, 長さ 250mm

カラム温度：40℃

移動相<sup>4)</sup>：水 700ml にメタノール 100ml, 酢酸 2.0g, テトラブチルアンモニウムヒドロキシド (TBAH) 19g を加えて混和し, TBAH で pH6.3~6.5 に調整し, 水で正確に 1,000ml としたものを。

流速：1ml/分

反応液の流速：0.3ml/分

反応温度：60℃

反応カラムの長さ：3m

測定波長：450nm

注入量：200 $\mu$ l

脱気用ガス：高純度窒素

## ② 検量線

それぞれの検量線用標準液それぞれ 200 $\mu$ l ずつを正確に量り、液体クロマトグラフに注入し、ピーク高さから臭素酸の検量線を作成する。

## ③ 定量<sup>5),6)</sup>

試料液 200 $\mu$ l を正確に量り、液体クロマトグラフに注入し、得られたピーク高さから検量線によって試料液中の臭素酸濃度 A (ng/ml) を求め、次式によって検体中の臭素酸濃度 (ng/ml) を求め、次式によって検体中の臭素酸含量 C ( $\mu$ g/kg) を計算する。

$$C (\mu\text{g/kg}) = \frac{A \times 50}{W}$$

A：試料液中の臭素酸濃度 (ng/ml)

W：試料の採取量 (g)

<使い捨てカラム>

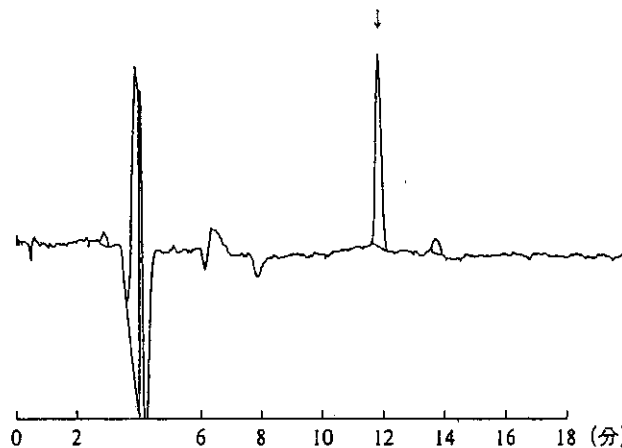
1. ディスポーザブルフィルター：孔径 0.45 $\mu$ m, 直径 25mm, 水系
2. 陽イオン交換カートリッジカラム：BondElutPRS, 3cc/500mg 相当品
3. 固相抽出カートリッジカラム：Sep-Pak Plus tC<sub>18</sub> Environmental 相当品。使用前にメタノール 10ml, 続いて水 10ml でコンディショニングする。
4. 銀カートリッジカラム：OnGuard TM-Ag 相当品
5. 限外ろ過カートリッジカラム：Molcut L 相当品

## 試薬・試液

1. 臭素酸カリウム：[特級]
2. メタノール：[液体クロマトグラフ用]
3. *o*-ジアニシジン・二塩酸塩
4. 硝酸：精密分析用，70%
5. テトラブチルアンモニウムヒドロキシド (TBAH)：40%溶液
6. 臭化カリウム：光学分析用
7. 水：水道水を超純粋製造装置で処理した水
8. ポストカラム用反応試薬<sup>7)</sup>：水 700ml に硝酸 60ml 及び臭化カリウム 10.0g を加える。更に，*o*-ジアニシジン・二塩酸塩 500mg をメタノール 200ml で溶解した液を加え，水で 1,000ml とする。

## [注]

- 1) 臭素酸カリウムは，パン以外の食品には使用できないので，パンからの定量法を記載してある。パン以外の食品の場合は，クリーンアップの方法が異なることが考えられる。
- 2) 負荷する溶液の量が多すぎてCl<sup>-</sup>イオンが混入すると発色を妨害するので注意する。TOYOPAK IC-SP-M を 0.1mol/l 硝酸銀溶液 10ml，次いで水 10ml で洗浄し，Ag 型としても使用できる。
- 3) カラムは，ガードカラムを装着して使用する。測定終了後，TBAH を除去するため 20%メタノールで洗浄する。
- 4) 移動相の脱気を十分に行わないと，ベースラインが安定しない。
- 5) 本法による定量限界は，10 $\mu$ g/kg である。
- 6) 臭素酸カリウムを 15mg/kg 加えて試作したパンから抽出したもののクロマトグラムを示す。



注図 97-1 臭素酸カリウムを 15 mg/kg 加えて試作したパンから抽出したものの液体クロマトグラム

- 7) *o*-ジアニシジンが完全に溶けていないと液が着色することがあるので，以下のようにするとよい。*o*-ジアニシジン・二塩酸塩 500mg を 20ml のスクリュウキャップ付きバイアル瓶に入れ，メタノール約 15ml を加えて溶かし，上澄液を臭化カリウム・硝酸溶液に合わせる。バイアル瓶中に残った *o*-ジアニシジンは，更にメタノールを加え，ガラス棒で碎いて溶かす。*o*-ジアニシジンが完全に溶けるまで，この操作を繰り返す。