

## ミネラルウォーター一類分析法の妥当性確認

### 生活科学部

#### はじめに

「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令」(平成26年厚生労働省令第141号)及び「食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件」(平成26年厚生労働省告示第482号)により、ミネラルウォーター類について成分規格が規定された。このたび、「清涼飲料水等の規格基準の一部改正に係る試験法について」<sup>1)</sup>及び上水試験方法<sup>2)</sup>を参考にした当所の分析法が、「食品中の有害物質に関する分析法の妥当性確認ガイドラインについて」<sup>3)</sup>(以下、ガイドラインという)の基準に適合しているか確認を行ったので報告する。

#### 方法

##### 1 妥当性確認の方法

ミネラルウォーターに基準値濃度となるように分析対象物質を添加し、検量線の範囲に入るように希釈して測定した。ミネラルウォーターに分析対象物質が含まれているものは、その値を差し引いて評価した。分析者1名、添加試料を1日2回、5日間分析する枝分かれ実験計画で分析法の妥当性を確認した。

##### 2 分析法

###### (1) 誘導結合プラズマ質量分析法(元素類)

元素類の標準原液は、和光純薬工業株式会社(以下、和光純薬という)製の多元素混合標準液 W-X 及び多元素混合標準液 W-XI と関東化学株式会社(以下、関東化学という)製の標準液(Zn, Cd, Se,

Cu, Pb, Ba, As, Mn, Cr, B)を用いた。硝酸は、関東化学製の Ultrapur を、精製水は、メルク株式会社製純水製造装置で精製した Milli-Q 水(以下、Milli-Q 水という)を用いた。

検水には1 L 当たり 10 mL の硝酸を加えた。混合標準液は、1 %硝酸で希釈して調製し、内部標準液は、多元素混合標準液 W-XI の 25 µL を 1 %硝酸で 100 mL としたものを装置に導入した。

混合標準液及び試験溶液を、誘導結合プラズマ質量分析装置(サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社製 XSeries II)に導入し、表1に示した各測定元素と対応する内部標準元素のイオン強度比から濃度を算出した。

###### (2) 還元気化原子吸光光度法(水銀)

塩化スズ(II)溶液及び硫酸(1+1)は関東化学製の水銀分析用を用いた。硝酸は関東化学製の有害金属測定用を、L-システイン塩酸塩は関東化学製の特級を用いた。

L-システイン塩酸塩 0.1 g を水に溶解して 100 mL としたものを、L-システイン溶液とした。

検水 20 mL に硝酸 200 µL 及び L-システイン溶液 20 µL を添加したものを還元気化原子吸光光度計(日本インスツルメンツ株式会社製マーキュリー RA-3A)に導入し、試料と同様に測定した標準液の検量線から濃度を算出した。

###### (3) イオンクロマトグラフポストカラム吸光光度法 I (亜塩素酸及び臭素酸)

亜塩素酸イオン標準原液は関東化学製のイオンクロマトグラフィー用を、臭素酸イオン標準原液は和光純薬製のイオンクロマトグラフ用を用いた。エチレンジアミン、炭酸ナトリウム、炭酸水素ナトリウム、亜硝酸ナトリウム、臭化カリウム及び硫酸は、関東化学製の特級を、精製水は Milli-Q 水を用いた。

エチレンジアミン 2.5 g を精製水で溶解し 50 mL としたものをエチレンジアミン溶液とした。炭酸ナトリウム 63.6 mg と炭酸水素ナトリウム 1008 mg を精製水に溶解して 1 L としたものを、移動相として 1.0 mL/min で送液した。亜硝酸ナトリウム 8.28 g を精製水に溶解して 100 mL としたものを 5 mL に精製水を加えて 500 mL としたものを反応液 A として 0.2 mL/min で送液した。臭化カリウム 89.4

表 1 測定元素と内部標準元素の組合せ

	測定元素	内部標準元素
亜鉛	<sup>66</sup> Zn	<sup>71</sup> Ga
カドミウム	<sup>111</sup> Cd	<sup>115</sup> In
セレン	<sup>78</sup> Se-H <sub>2</sub>	<sup>71</sup> Ga-H <sub>2</sub>
銅	<sup>65</sup> Cu	<sup>59</sup> Co
鉛	<sup>208</sup> Pb	<sup>205</sup> Tl
バリウム	<sup>137</sup> Ba	<sup>115</sup> In
ヒ素	<sup>75</sup> As-H <sub>2</sub>	<sup>71</sup> Ga-H <sub>2</sub>
マンガン	<sup>55</sup> Mn	<sup>59</sup> Co
クロム	<sup>52</sup> Cr-H <sub>2</sub>	<sup>59</sup> Co-H <sub>2</sub>
ホウ素	<sup>11</sup> B	<sup>9</sup> Be

表2 亜塩素酸及び臭素酸測定条件

イオンクロマトグラフ	Shimadzu prominence
分離カラム	Shim-pack IC Bromate(4.0×150 mm)
ガードカラム	Shim-pack IC Bromate(G)(4.6×10 mm)
カラム温度	40 °C
ポンプルーター温度	4 °C
検出器測定波長	268 nm
注入量	200 µL

gに精製水約400 mLを加え、水冷及び攪拌しながら硫酸28 mLを加えた後、精製水で500 mLとしたものを反応液Bとして0.4 mL/minで送液した。

検水には1 L当たりエチレンジアミン溶液1 mLを加え、孔径0.2 µmのメンブレンフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

亜塩素酸及び臭素酸混合標準液は、Milli-Q水で調製した。

混合標準液及び試験溶液を表2の条件で測定し、ピーク高さから濃度を算出した。

(4) イオンクロマトグラフ法(陰イオン性化合物)

塩素酸イオン標準液は関東化学製のイオンクロマトグラフ用を、硝酸性窒素標準液、亜硝酸性窒素標準液及びフッ化物イオン標準液は関東化学製の化学分析用を用いた。精製水は、Milli-Q水を用いた。

検水には1 L当たり、分析法(3)で調製したエチレンジアミン溶液を1 mLを加え、孔径0.2 µmのメンブレンフィルターでろ過したものを試験溶液とした。混合標準液は、Milli-Q水で調製した。

混合標準液及び試験溶液は表3の条件で導入し、塩素酸及びフッ素は電気伝導度検出器で、硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素は紫外吸収検出器(測定波長210 nm)で測定し、ピーク面積から濃度を算出した。

(5) ヘッドスペースガスクロマトグラフ質量分析法(揮発性有機化合物)

標準原液は、和光純薬製の25種揮発性有機化合物混合標準液を用いた。フルオロベンゼン標準液

は関東化学製、1,4-ジオキサン-d<sub>8</sub>は和光純薬製を用いた。メタノールは関東化学製の水質試験用を、塩化ナトリウムは関東化学製の特級を500 °Cで2時間加熱して用いた。精製水は、Milli-Q水を用いた。

1,4-ジオキサン-d<sub>8</sub>標準液は、400 mgの1,4-ジオキサン-d<sub>8</sub>をメタノールに溶解して50 mLとして調製した。1 mg/mLフルオロベンゼン標準液1.25 mL及び1,4-ジオキサン-d<sub>8</sub>標準液1.25 mLをメタノールで10 mLとした内部標準混合原液を調製した。内部混合標準原液1 mLをメタノールで10 mLとした内部標準混合液を調製した。

塩化ナトリウム3 gを入れたバイアルに検水10 mL及び内部標準混合液2 µLを添加し、アルミキ

表4 揮発性有機化合物測定条件

ヘッドスペースサンプラー	Parkin Elmer Turbo Matrix HS40
ガスクロマトグラフ	Shimadzu
質量分析装置	GCMS-QP2010plus
キャピラリーカラム	SUPELCO VOCOL™ (0.32 mm×60 m, 1.8 µm)
気化室温度	150 °C
インターフェース温度	230 °C
イオン源温度	200 °C
カラム温度	40 °C(1 min)-5 °C/min -90 °C(0 min)-12 °C/min -220 °C(5 min)
バイアル加熱	80 °C 30min
定量イオン	クロホルム 83 四塩化炭素 117 1,4-ジオキサン 88 1,2-ジクロロエタン 62 ジクロロメタン 49 シス-1,2-ジクロロエチレン 61 トランス-1,2-ジクロロエチレン 61 ジブromクロロメタン 129 テトラクロロエチレン 166 トリクロロエチレン 130 トルエン 91 ブromジクロロメタン 83 ブromホルム 173 ベンゼン 78 フルオロベンゼン 96 1,4-ジオキサン-d <sub>8</sub> 96

表3 陰イオン性化合物測定条件

イオンクロマトグラフ	DIONEX ICS-2000
分離カラム	IonPac AS18
ガードカラム	IonPac AG18
移動相流速	1.0 mL/min
注入量	100 µL

キャップで密栓したものを試験溶液とした。

内部標準混合原液 1 mL に 25 種揮発性有機化合物混合標準液を加えてメタノールで 10 mL とした検量線用の混合標準液を調製し、この溶液 2  $\mu$ L を塩化ナトリウム 3 g 及び精製水 10 mL を含むバイアルに添加しアルミキャップで密栓したものと試験溶液を表 4 の条件で測定した。

1, 4-ジオキサンの内部標準物質は 1, 4-ジオキサン-d<sub>8</sub>, 1, 4-ジオキサン以外の内部標準物質はフルオロベンゼンとし、測定対象物質と内部標準物質のピーク面積の比から濃度を算出した。

(6) ジエチル-p-フェニレンジアミンによる吸光度法(残留塩素)

ポケット残留塩素計 (HACH 社製 Pocket Colorimeter II) を用いて、あらかじめ組み込まれている検量線により濃度を算定した。

(7) イオンクロマトグラフポストカラム吸光度法 II (シアン)

4-ピリジンカルボン酸ナトリウムは和光純薬製のシアン定量用を、1-フェニル-3-メチル-5-ピラゾロン及びリン酸二水素ナトリウム二水和物は和光純薬製の特級を、酒石酸、酒石酸ナトリウム二水和物、リン酸二水素カリウム、リン酸一水素ナトリウム、クロラミン T、N,N-ジメチルホルムアミド及びリン酸は関東化学製の特級を、次亜塩素酸ナトリウム溶液は関東化学製の鹿 1 級を用いた。精製水は、Milli-Q 水を用いた。

酒石酸 375 mg と酒石酸ナトリウム二水和物 1.726 g を精製水に溶解して 1 L としたものを移動相として 0.6 mL/min で送液した。リン酸二水素カリウム 1.36 g を精製水で溶解し 100 mL とし、別にリン酸一水素ナトリウム 5.86 g を精製水で溶解し 400 mL とし、両液を合わせたものにクロラミン T 0.5 g を溶解したものを塩素化液として 0.5 mL/min で送液した。1-フェニル-3-メチル-5-ピラゾロン 2.5 g を N,N-ジメチルホルムアミド 150 mL に溶解し、別に 4-ピリジンカルボン酸ナトリウム 7.0 g を精製水約 300 mL に溶解し、両液を合わせて精製水で 500 mL としたものを発色液として 0.5 mL/min で送液した。リン酸二水素ナトリウム二水和物 15.6 g を精製水に溶解し、リン酸 6.8 mL を加え、精製水で 100 mL とした 1 mol/L リン酸緩衝液を調製した。1 mol/L リン酸緩衝液の 10 mL を精製水で 1 L とした、0.01 mol/L リン酸緩衝液を調製した。

検水は、孔径 0.2  $\mu$ m のメンブレンフィルター

表 5 シアン測定条件

イオンクロマトグラフ	Shimadzu prominence
分離カラム	Shim-pack Amino-NA(4 $\times$ 100 mm)
ガードカラム	Shim-pack IC CN(G)(6 $\times$ 10 mm)
カラム温度	40 $^{\circ}$ C
サンプルクーラー温度	4 $^{\circ}$ C
反応エッセツ温度	100 $^{\circ}$ C
検出器測定波長	638 nm
注入量	100 $\mu$ L

でろ過した。

シアン化カリウム 2.51 g を精製水に溶解して 1L としたシアン化物イオン標準原液から、シアン化物イオンとして 10 mg に相当する量を分取し、精製水で希釈して 1L とした。その 2 mL に 1 mol/L リン酸緩衝液 1 mL を加え精製水で 100 mL としたものをシアン化物イオン標準液とした。次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素濃度 0.05 %) 1 mL とシアン化物イオン標準液 25 mL を 0.01 mol/L リン酸緩衝液で 50 mL とした 1 時間以上冷所で静置したものを塩化シアン標準液とした。シアン化物イオン標準液及び塩化シアン標準液は、0.01 mol/L リン酸緩衝液で希釈して検量線作成用の標準液を調製した。

シアン化物イオン標準液、塩化シアン標準液及び試験溶液を表 5 の条件で測定し、ピーク面積から濃度を算出した。

(8) 溶媒抽出ガスクロマトグラフ質量分析法(ジクロロアセトニトリル)

ジクロロアセトニトリル標準原液及び 1, 2, 3-トリクロロプロパン標準原液は、和光純薬製の水質試験用を用いた。メチル-t-ブチルエーテル(以下、MTBE という)、メタノール及び無水硫酸ナトリウムは関東化学製の残留農薬試験用を用いた。塩化ナトリウムは、関東化学製の特級を 500  $^{\circ}$ C で 2 時間加熱したものをを用いた。

1 mg/L ジクロロアセトニトリル標準原液 1 mL をメタノールで 100 mL としたものをジクロロアセトニトリル標準液とした。1 mg/L 1, 2, 3-トリクロロプロパン標準原液 1 mL を MTBE で 100 mL としたものを 5 mL を MTBE で 500 mL としたものを内部標準液とした。

検水 50 mL を分液ロートに採取し、塩化ナトリウム 20 g と内部標準液 5 mL を加え、5 分間激しく振り混ぜ静置した後、MTBE 層を分取して、無水

表6 ジクロロアセトニトリル測定条件

ガスクロマトグラフ	Shimadzu GCMS-QP2010ultra
質量分析装置	Shimadzu GCMS-QP2010ultra
キャピラリーカラム	J&W DB-5MS(0.25 mm×30 m, 0.25 μm)
気化室温度	200 °C
インターフェース温度	250 °C
イオン源温度	200 °C
カラム温度	40 °C(2 min)-15 °C/min -250 °C(5 min)
注入方式	スプリット(2:1)
注入量	2 μL
定量イオン	ジクロロアセトニトリル 74 内部標準物質 75

硫酸ナトリウム 2 g を加えて脱水したものを試験溶液とした。

精製水 50 mL にジクロロアセトニトリル標準液を添加し、試料と同様に操作したもの及び試験溶液を表6の条件で測定し、ジクロロアセトニトリルと内部標準物質のピーク面積の比から濃度を算出した。

(9) 溶媒抽出誘導体化ガスクロマトグラフ質量分析法(ホルムアルデヒド)

ホルムアルデヒド標準原液は関東化学製の化学分析用を、1-クロロデカン標準原液は関東化学製の水質試験用を用いた。ペンタフルオロベンジルヒドロキシルアミン塩酸塩(以下、PFBOA という)は和光純薬製の水質試験用を、硫酸(1+1)は関東化学製の水銀分析用を用いた。塩化ナトリウムは関東化学製の特級を 500 °C で2時間加熱して用いた。精製水は Milli-Q 水を用いた。

1 mg/mL ホルムアルデヒド標準原液 1 mL をメタノールで 100 mL としたものをホルムアルデヒド標準液とした。1 mg/mL 1-クロロデカン標準原液 0.5 mL をヘキサンで 1 L としたものを内部標準液とした。

PFBOA 0.1 g を精製水で溶解し、100 mL としたものを PFBOA 溶液とした。

検水 50 mL を分液ロートに採取し、PFBOA 溶液 3 mL を加えて2時間静置した後、硫酸(1+1) 0.8 mL、塩化ナトリウム 20 g 及び内部標準液 5 mL を加えて5分間激しく振り混ぜて静置してから、ヘキサン層を分取し、無水硫酸ナトリウム 2 g を加えて脱水したものを試験溶液とした。

精製水 50 mL にホルムアルデヒド標準液を添加

表7 ホルムアルデヒド測定条件

ガスクロマトグラフ	Shimadzu GCMS-QP2010ultra
質量分析装置	Shimadzu GCMS-QP2010ultra
キャピラリーカラム	J&W DB-5MS(0.25 mm×30 m, 0.25 μm)
気化室温度	230 °C
インターフェース温度	250 °C
イオン源温度	200 °C
カラム温度	50 °C(5 min)-10 °C/min -250 °C(0 min)
注入方式	スプリットレス
注入量	2 μL
定量イオン	ホルムアルデヒド 181 内部標準物質 91

し、試料と同様に操作したもの及び試験溶液を表7の条件で測定し、ホルムアルデヒド誘導体化物と内部標準物質のピーク面積の比から濃度を算出した。

(10) 全有機炭素計測定法(TOC)

全有機炭素測定装置(株式会社島津製作所製 TOC-V<sub>CPH</sub>)を用いて、あらかじめ作成した検量線により濃度を算定した。試料の希釈には Milli-Q 水を用いた。

## 結 果

1 種類のミネラルウォーターを用いて分析法の妥当性確認を行った結果を表8に示した。ガイドラインに示されている真度及び精度の目標値並びに選択性を満足するものであった。

また、分析対象物質の含有量の少ないミネラルウォーター若しくは Milli-Q 水に表8の定量下限値程度の分析対象物質を添加して、同様の妥当性確認を試みた。その結果、無機物について真度は 90~110 %、併行精度及び室内精度は 10 %以内であり、有機物については真度は 90~120 %、併行精度及び室内精度は 20 %以内であり良好であった。

## 文 献

- 1) 厚生労働省通知，食安発 1222 第 4 号，平成 26 年 12 月 22 日
- 2) 日本水道協会：上水試験方法 2011 版(2011)
- 3) 厚生労働省通知，食安発 1222 第 7 号，平成 26 年 12 月 22 日

表8 真度及び精度の結果

ミネラルウォーター類(殺菌・除菌有)の成分規格	分析法	物質名	検量線濃度範囲 (mg/L)	定量下限値 (mg/L)	評価濃度 (mg/L)	真度 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)	
亜鉛	5 mg/L 以下	(1)	亜鉛	0.0005~0.02	0.01	5	102.1	2.72	4.01
カドミウム	0.003 mg/L 以下	(1)	カドミウム	0.0001~0.002	0.0001	0.003	101.8	1.18	2.31
水銀	0.0005 mg/L 以下	(2)	水銀	0.00005~0.0002	0.00005	0.0005	102.7	1.86	1.50
セレン	0.01 mg/L 以下	(1)	セレン	0.0005~0.005	0.001	0.01	102.2	2.34	2.86
銅	1 mg/L 以下	(1)	銅	0.0005~0.02	0.01	1	98.0	0.77	2.96
鉛	0.05 mg/L 以下	(1)	鉛	0.0005~0.01	0.001	0.05	97.0	0.53	2.77
バリウム	1 mg/L 以下	(1)	バリウム	0.0001~0.01	0.001	1	96.8	1.75	3.54
ヒ素	0.05 mg/L 以下	(1)	ヒ素	0.0001~0.005	0.001	0.05	96.3	0.81	3.72
マンガン	2 mg/L 以下	(1)	マンガン	0.0001~0.005	0.001	2	103.2	1.20	4.55
六価クロム	0.05 mg/L 以下	(1)	六価クロム	0.0005~0.005	0.001	0.05	95.4	0.94	3.29
亜塩素酸	0.6 mg/L 以下	(3)	亜塩素酸	0.001~0.01	0.001	0.6	94.7	1.57	1.91
塩素酸	0.6 mg/L 以下	(4)	塩素酸	0.06~0.24	0.06	0.6	109.8	0.64	3.06
クロロホルム	0.06 mg/L 以下	(5)	クロロホルム	0.0002~0.01	0.0002	0.06	96.1	4.29	6.57
残留塩素	3 mg/L 以下	(6)	残留塩素	0~2	0.1	3	90.3	1.19	1.88
シアン	0.01 mg/L 以下	(7)			0.001				
(シアンイオン及び塩化シアン)			シアン化物イオン	0.0005~0.005	0.0005	0.005	96.1	2.91	4.33
			塩化シアン	0.0005~0.005	0.0005	0.005	96.6	1.16	3.41
四塩化炭素	0.002 mg/L 以下	(5)	四塩化炭素	0.0002~0.01	0.0002	0.002	83.5	10.65	18.40
1,4-ジオキサン	0.04 mg/L 以下	(5)	1,4-ジオキサン	0.005~0.01	0.005	0.04	98.7	1.41	3.42
ジクロロアセトニトリル	0.01 mg/L 以下	(8)	ジクロロアセトニトリル	0.001~0.004	0.001	0.01	100.1	1.82	2.42
1,2-ジクロロエタン	0.004 mg/L 以下	(5)	1,2-ジクロロエタン	0.0002~0.01	0.0002	0.004	98.4	1.66	2.90
ジクロロメタン	0.02 mg/L 以下	(5)	ジクロロメタン	0.0002~0.01	0.0002	0.02	98.1	3.02	4.26
シス-1,2-ジクロロエチレン及び トランス-1,2-ジクロロエチレン	0.04 mg/L 以下	(5)			0.0004				
			シス-1,2-ジクロロエチレン	0.0002~0.01	0.0002	0.02	96.0	2.74	3.97
			トランス-1,2-ジクロロエチレン	0.0002~0.01	0.0002	0.02	88.7	2.46	4.81
ジブromクロロメタン	0.1 mg/L 以下	(5)	ジブromクロロメタン	0.0002~0.01	0.0002	0.1	99.3	10.70	11.77
臭素酸	0.01 mg/L 以下	(3)	臭素酸	0.001~0.01	0.001	0.01	107.4	0.35	0.48
硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素	10 mg/L 以下	(4)			0.02				
			硝酸性窒素	0.01~1	0.01	5	104.3	0.33	3.02
			亜硝酸性窒素	0.004~0.08	0.004	5	104.5	0.64	3.30
テトラクロロエチレン	0.01 mg/L 以下	(5)	テトラクロロエチレン	0.0002~0.01	0.0002	0.01	96.5	4.45	5.17
トリクロロエチレン	0.004 mg/L 以下	(5)	トリクロロエチレン	0.0002~0.01	0.0002	0.004	87.1	2.96	11.95
トルエン	0.4 mg/L 以下	(5)	トルエン	0.0002~0.01	0.0002	0.4	95.7	1.67	10.59
フッ素	2 mg/L 以下	(4)	フッ素	0.05~1	0.05	2	100.5	0.77	2.05
ブromジクロロメタン	0.03 mg/L 以下	(5)	ブromジクロロメタン	0.0002~0.01	0.0002	0.03	100.3	4.50	4.03
ブromホルム	0.09 mg/L 以下	(5)	ブromホルム	0.0002~0.01	0.0002	0.09	106.1	8.95	12.86
ベンゼン	0.01 mg/L 以下	(5)	ベンゼン	0.0002~0.01	0.0002	0.01	97.1	1.47	3.17
ハウ素	30 mg/L 以下 (ハウ酸として)	(1)	ハウ素	0.005~0.2	0.02	5.245	99.4	1.04	3.48
ホルムアルデヒド	0.08 mg/L 以下	(9)	ホルムアルデヒド	0.001~0.004	0.001	0.08	93.2	0.78	4.57
有機物等(全有機炭素)	3 mg/L 以下	(10)	全有機炭素	0~3	0.1	3	103.7	1.65	2.66