

短報

炭酸入りミネラルウォーターの
成分規格試験法の検討
ー揮発性有機化合物ー

上村 仁, 仲野 富美, 佐藤 学, 西 以和貴,
辻 清美

Studies on analytical method of
compositional standard items in
carbonated mineral waters.
ーVolatile Organic Compoundsー

Hitoshi UEMURA, Fumi NAKANO, Manabu SATO,
Iwaki NISHI and Kiyomi TSUJI

はじめに

平成26年（2014年）12月に施行されたミネラルウォーター類の規格基準改正¹⁾によりミネラルウォーター類に係る規制項目が大幅に増加した。多くの項目はすでに水道水の規制項目となっており、水道水や清涼飲料水の分析法（通知法^{2,3)}）を用いて精度よく分析することが可能である。しかし、炭酸入りミネラルウォーター類については、その特異性から既存の分析法がそのまま適用できない項目が多く存在する。試料の発泡のみが分析の障害となるため試料を十分に脱気することにより解決することが可能な項目もあるが、項目によっては脱気が不可能な場合もあり、揮発性有機化合物（VOC）はその代表的な例である。

そこで、ヘッドスペースGC/MS法を用いたVOC分析法について、炭酸入りミネラルウォーター類への適用の可否について検証した。

方法

1. 試薬

メタノールは和光純薬工業製の残留農薬・PCB試験用（5,000倍濃縮）を、各内部標準原液及び各標準原液は和光純薬工業製の水質試験用試薬を使用した。

添加用ブランク水には十分に冷却した市販のミネラル

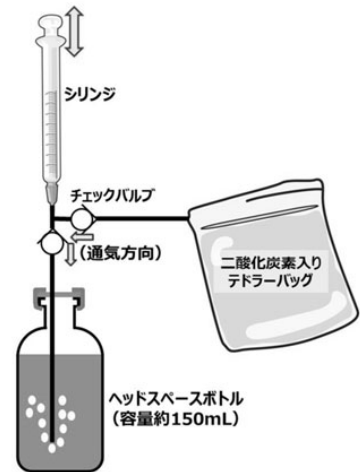


図1 自作の器具による炭酸水の製造方法

ウォーター（ボルヴィック：キリンビバレッジ製）に自作の器具（図1）を用いて二酸化炭素を注入し、よく振とう混合したものを用いた。

2. 装置及び測定方法

装置及び測定条件を表1、表2に示した。測定対象はミネラルウォーター類としての規格基準のある14化合物と、農薬としてミネラルウォーター類への残留基準が定められている1,2-ジクロロプロパン、1,3-ジクロロプロパン（シス体及びトランス体）の合計17化合物とした。

表1 装置及び測定条件

ヘッドスペースサンプラー	アジレント GC Sampler 80
GC/MS	アジレント 7890B GC + 5977A MSD
カラム	アジレント DB-624 (0.25mm i.d. ×30m、膜厚1.4μm)
カラム温度	40℃(6分)-(8℃/分)-120℃(3分) -(15℃/分)-230℃(5分)
キャリアガス	ヘリウム(1mL/分、定流量モード)
注入口温度	230℃
注入モード	スプリット(スプリット比 10:1)
測定モード	SIM
測定質量数	表2に記載
バイアル加熱温度	60℃
バイアル加熱時間	40分

結果及び考察

1. 試料採取方法の比較

当所においては、炭酸を含まない水の分析の場合、ヘッドスペースバイアルへの試料の採取（12mL）にはデジタルピペットを使用している（6mLを2回採取）。しかし、炭酸水では気泡を嚙んでしまい正確な液量の採取が困難であると考えられた。そこで、デジタルピペット（6mL×2回）、ホールピペット（6mL×2回）、メスピペット（20mLメスピペットで12mL）、メスシリンダー（20mLメスシリンダーで12mL）で炭酸水（精製水に二

酸化炭素を注入したもの）を採取し、その重量を測定してどの程度正確に試料が採取できるのかを比較した（10回繰り返し測定）。炭酸を含まない精製水で実施した結果と併せて、結果を表3に示した。炭酸水においては、ホールピペットでは気泡のために液面を標線に合わせることが不可能であったため、その他の3つの方法につい

て比較した。その結果、最も回収率が良好だったのがメスピペット（99.2%）で、次いでメスシリンダー（97.6%）、デジタルピペット（91.9%）であった。再現性はメスピペットが最も良好（変動係数0.158%）で、次いでデジタルピペット（0.541%）、メスシリンダー（0.606%）であった。総合すると、試料採取にはメスピペットが最適であると考えられた。そこで、以降の検討において、炭酸水試料採取の際にはメスピペットを使用することとした。

2. 試料の調製方法の比較

ヘッドスペース分析の際には塩析用に塩化ナトリウムを試料に添加するが、炭酸水に塩化ナトリウムを添加すると激しく発泡し、その際のVOCの逸失が懸念される。また、水道水やミネラルウォーター類の通知法に定められた方法（あらかじめ塩化ナトリウムを入れたバイアルに検体を注ぎ、その後、内部標準溶液を添加する方法）では、塩化ナトリウムを添加してVOCが揮散しやすくなった状態で密栓までの時間が長くなり、この間におけるVOCの逸失も懸念される。これらの問題を確認する

表2 測定質量数

化合物名	定量 イオン (m/z)	確認 イオン (m/z)	化合物名	定量 イオン (m/z)	確認 イオン (m/z)
四塩化炭素	117	119	ブロモジ クロロメタン	83	85
1,4-ジオキサン	88	58	ブロモホルム	173	171
シス-1,2- ジクロロエチレン	96	61	1,2-ジクロロ エタン	62	64
トランス-1,2- ジクロロエチレン	96	61	トルエン	91	92
ジクロロメタン	84	86	1,2-ジクロロプロパン	63	62
テトラ クロロエチレン	166	129	シス-1,3- ジクロロプロベン	110	75
トリクロロエチレン	130	132	トランス-1,3- ジクロロプロベン	110	75
ベンゼン	78	77	フルオロベンゼン (内部標準)	96	70
クロホルム	83	85	1,4-ジオキサン-d8 (内部標準)	96	64
ジブロモ クロロメタン	129	127			

表3 検体採取方法の比較 (n=10)

	無炭酸				炭酸入り		
	デジタルピペット (6mL×2)	ホールピペット (6mL×2)	メスピペット	メスシリンダー	デジタルピペット (6mL×2)	メスピペット	メスシリンダー
平均重量 (g)	11.867	12.002	12.008	11.873	11.029	11.907	11.710
変動係数 (%)	0.179	0.090	0.177	0.913	0.541	0.158	0.606
平均回収率 (%)	98.9	100.0	100.1	98.9	91.9	99.2	97.6

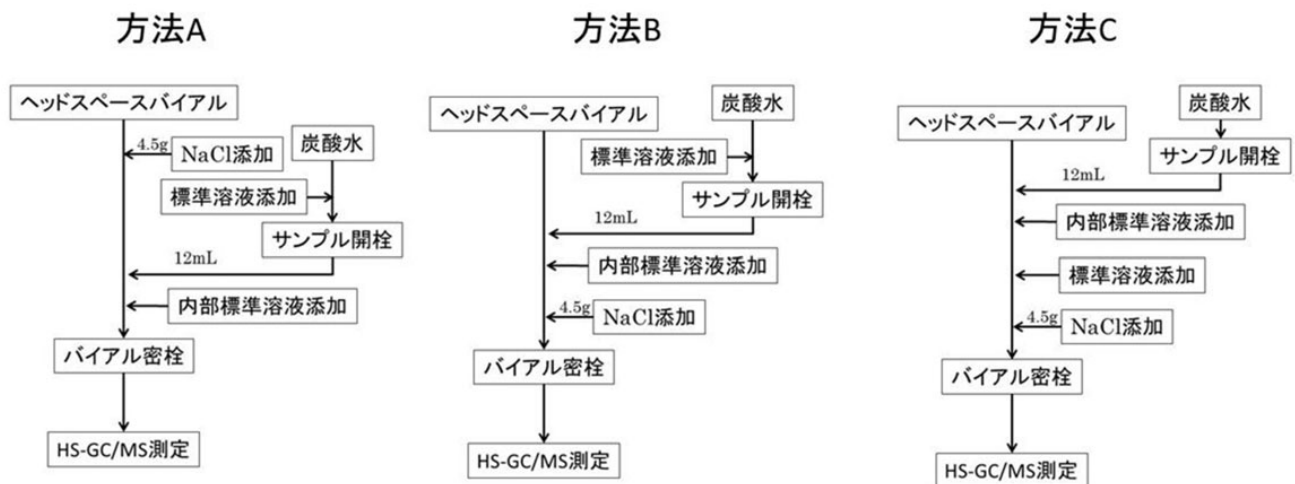


図2 検討した前処理方法

ため、ブランク水の採取、塩化ナトリウムの添加、標準溶液の添加の順序を変えて調製した各試料（図2 方法A及び方法B）の測定を行った。

あらかじめヘッドスペースバイアルに塩化ナトリウムを入れておき、そこに標準溶液を添加した炭酸水と内部標準溶液を添加して密封する方法（方法A：通知法準拠）と、ヘッドスペースバイアルに標準溶液を添加した炭酸水を入れた後に内部標準溶液を添加し、最後に塩化ナトリウムを添加して密封する方法（方法B）で測定を行った。いずれの方法でも、自作の器具（図1）により製造した炭酸水に対して、開栓することなくキャップ部のセプタムを通して所要量の標準溶液を注射針で注入することにより、開栓前の状態でVOC濃度既知の炭酸水を調製した。これらの分析結果の比較により塩化ナトリウム添加のタイミングの違いによるVOC逸失の状況を確認した（各成分の濃度は5 µg/Lとなるように開栓前に標準溶液を添加、5回繰り返し測定）。

結果を表4に示した。揮発性の低い1,4-ジオキサンはどちらの方法でも良好な回収率が得られた。その他の化合物の回収率は方法Aでは41.4%~89.5%（平均69.9%）、方法Bでは60.4%~120%（平均96.6%）であった。方法Bの方が良好な結果であり、塩化ナトリウム添加後、密栓までの時間が長くなることにより、VOCの逸失が起きていることが示唆された。

3. 開栓時、分注時のVOCの揮散

炭酸飲料は開栓時や測定容器への移し替え時に発泡し、この際のVOC逸失も懸念されるところである。開栓前に標準溶液を添加する方法Bと対象化合物を含まない炭酸水をヘッドスペースバイアルへ分注後に標準溶液を添加する方法（方法C）の分析結果の比較をした（各成分の濃度は5 µg/Lとなるように標準溶液を添加、5回繰り返し測定）。方法Cにおいては対象化合物は開栓時及びバイアルへの分注時の影響を受けない。従って、方法Cの測定値と方法Bの測定値の差が開栓時及びバイアルへの分注時に逸失するVOCの量に相当すると考えられた。

結果を表4に示した。1,4-ジオキサンはどちらの方法でも良好な回収率が得られたので、ここではそれ以外の化合物について論じる。方法Cにおいて、各化合物の回収率は71.2%~129%（平均106%）であった。方法Bにおいては各化合物の回収率は60.4%~120%（平均96.6%）であった。方法Bと方法Cの回収率を比較すると、各化合物の平均で方法Bは方法Cの90.8%の回収率（80.6%~101%）となっていた。物質により程度は異なるが、開栓からバイアル分注までの間にVOCは最大20%近くが逸失していることが明らかになった。

4. 妥当性確認

開栓前の炭酸水中のVOC濃度を正確に求めることは、測定までの間のVOCの揮散の程度が化合物の種類や製品の状態（炭酸含有量等）により異なるために困難であると考えられた。一方、消費者が実際に飲用・摂取する

表4 各前処理方法による測定結果（n=5）

検査対象物質	方法A			方法B			方法C		
	測定値 (µg/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)	測定値 (µg/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)	測定値 (µg/L)	回収率 (%)	変動係数 (%)
ジクロロメタン	3.74	74.8	4.21	5.17	103	7.65	5.64	113	5.70
トランス-1,2-ジクロロエチレン	2.80	55.9	7.27	4.01	80.3	3.02	4.68	93.6	3.67
シス-1,2-ジクロロエチレン	3.51	70.2	4.56	4.92	98.5	5.23	5.57	111	3.67
クロロホルム	3.55	71.0	4.41	4.87	97.5	6.01	5.36	107	3.71
四塩化炭素	2.07	41.4	12.3	3.02	60.4	3.21	3.56	71.2	9.23
ベンゼン	3.27	65.4	5.50	4.58	91.6	4.28	4.97	99.4	3.34
1,2-ジクロロエタン	4.48	89.5	4.68	5.98	120	7.87	6.43	129	7.40
トリクロロエチレン	2.85	56.9	7.43	4.08	81.7	2.63	5.06	101	4.07
1,2-ジクロロプロパン	3.80	75.9	3.65	5.19	104	6.43	5.49	110	4.35
1,4-ジオキサン	5.48	110	14.0	5.15	103	5.49	5.20	104	6.92
ブromジクロロメタン	3.92	78.4	3.80	5.29	106	7.17	5.50	110	5.15
トルエン	3.22	64.3	6.00	4.54	90.7	2.93	5.49	110	3.61
シス-1,3-ジクロロプロペン	3.71	74.3	3.19	5.12	102	7.80	5.87	117	6.00
トランス-1,3-ジクロロプロペン	3.74	74.8	3.03	5.26	105	6.31	5.99	120	4.24
テトラクロロエチレン	2.57	51.4	9.71	3.71	74.1	2.49	3.90	78.1	6.72
ジブロモクロロメタン	4.21	84.3	4.18	5.65	113	8.23	5.78	116	5.91
ブromホルム	4.47	89.4	4.74	5.93	119	8.98	5.86	117	6.20
平均(全体)	3.61	72.2	6.04	4.85	97.0	5.63	5.31	106	5.29
最少(全体)	2.07	41.4	3.03	3.02	60.4	2.49	3.56	71.2	3.34
最大(全体)	5.48	110	14.01	5.98	120	8.98	6.43	129	9.23
平均(1,4-ジオキサンを除く)	3.49	69.9	5.54	4.83	96.6	5.64	5.32	106	5.19
最少(1,4-ジオキサンを除く)	2.07	41.4	3.03	3.02	60.4	2.49	3.56	71.2	3.34
最大(1,4-ジオキサンを除く)	4.48	89.5	12.3	5.98	120	8.98	6.43	129	9.23

表5 妥当性確認結果（2 併行 5 回測定）

検査対象物質	添加濃度 (mg/L)	真度 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
ジクロロメタン	0.002	99.0	4.89	9.01
トランス-1,2-ジクロロエチレン	0.002	87.6	2.89	7.39
シス-1,2-ジクロロエチレン	0.002	100	3.97	6.52
クロロホルム	0.002	97.3	3.87	6.46
四塩化炭素	0.002	70.6	4.80	15.8
ベンゼン	0.002	95.2	3.15	5.74
1,2-ジクロロエタン	0.002	112	4.24	9.18
トリクロロエチレン	0.002	89.0	2.71	7.75
1,2-ジクロロプロパン	0.002	101	4.39	6.46
1,4-ジオキサン	0.01	101	3.92	5.65
ブロモジクロロメタン	0.002	102	4.77	6.67
トルエン	0.01	102	6.68	9.74
シス-1,3-ジクロロプロペン	0.002	101	9.11	10.6
トランス-1,3-ジクロロプロペン	0.002	103	7.46	11.8
テトラクロロエチレン	0.002	84.0	2.87	10.6
ジブロモクロロメタン	0.002	108	4.86	7.76
ブromoホルム	0.002	111	4.72	8.80
目標値		70~120	20	20

VOC濃度は、炭酸水を開栓しコップ等に移して飲むことを想定すると、開栓・分注の間に揮散するVOC濃度を除外した濃度、すなわち、方法Cで測定した濃度が相当するものと考えられた。そこで、方法Cについて妥当性の確認を行った。添加濃度は1,4-ジオキサンとトルエンは0.01mg/L、その他の化合物は0.002mg/Lとした。各回2 併行、5 回の測定結果を用いて評価した。真度及び精度の目標値は妥当性評価ガイドライン⁴⁾に従った。結果を表5に示した。真度は四塩化炭素が70.6%と、辛うじて目標値を満足したが、その他の化合物は概ね良好な結果となった。併行精度、室内精度も目標値を満足していた。炭酸を含まないミネラルウォーターを用いた妥当性確認結果は真度93.9%~105%（平均102%）、併行精度4.11%~5.58%（平均4.93%）、室内精度4.67%~8.73%（平均5.77%）であり、これに比較すると劣るも

の、本法が妥当であることが確認できた。

まとめ

炭酸入りミネラルウォーターをヘッドスペースバイアルに分注する際に用いる器具をデジタルピペット、ホールピペット、メスピペット、メスシリンダーと比較したところ、メスピペットが最も正確に量り取れることがわかった。試料の開栓時やヘッドスペースバイアルへの分注時にVOC濃度は最大20%近く減少していた。揮発性の低い1,4-ジオキサンは分析操作途中に揮散せず、正確な分析が可能であった。試料への塩析用の塩化ナトリウムの添加は密封直前に行うとVOCの逸失が比較的抑えられた。この方法について妥当性確認を行ったところ、妥当であり、炭酸入りミネラルウォーターにも適用可能であることが確認できた。

参考文献

- 1) 乳及び乳製品の成分規格等に関する省令及び食品、添加物等の規格基準の一部改正について、食安発1222第1号、平成26年12月22日。
- 2) 水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法、厚生労働省告示第261号、平成15年7月22日。
- 3) 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、食安発1222第4号、平成26年12月22日。
- 4) 食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドラインについて、食安発1222第8号、平成26年12月22日。