

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 —陰イオン性化合物・臭素酸—

仲野 富美, 佐藤 学, 西 以和貴, 辻 清美,
上村 仁

Studies on analytical method of compositional standard items in carbonated mineral waters. —Anions and bromate—

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

はじめに

ミネラルウォーター類 (MW) の成分規格が平成26年12月に改正され, 現在, MWの化学物質等についての成分規格基準は, 殺菌・除菌有の製品で39項目, 殺菌・除菌無の製品で14項目が定められている¹⁾.

MWは種類が非常に多く, 一部, 炭酸入りミネラルウォーター (以下, 炭酸MW) が流通している. これらの製品は炭酸ガスが発泡するため, 検査時にピペット等の計量器具でサンプリングする際や測定装置のオートサンプラーで試料注入を行う際に, 気泡を嚙んで採取量または注入量が不正確となることが懸念される. またイオンクロマトグラフ法では炭酸ガスによるクロマトグラムへの影響も報告されていることから^{2,3)}, 前処理として試料から炭酸ガスを除去することが必要と考えられる.

MWの試験法は厚生労働省からの通知⁴⁾で分析法 (以下, 通知法) が示されているが, 炭酸MWの分析については言及されていない.

そこで今回, 成分規格基準項目のうち, イオンクロマトグラフを用いて測定する項目である陰イオン性化合物 (以下, 陰イオン類) 及び臭素酸 (以下, BrO_3) について炭酸ガスを除去するための前処理法を中心に試験法の

検討を行った. また, 炭酸を含有する水を保存した場合の陰イオン類の安定性について若干の検討を行ったので, 併せて報告する.

方法

1. 装置

イオンクロマトグラフはサーモフィッシャーサイエンティフィック製ICS-1600, ポストカラム装置はPPU-520を用いた. 超音波洗浄機はシャープ製UT-105HSを用いた.

2. 標準液, 試薬, 器材

陰イオン混合標準液は陰イオン類7成分 (フッ化物イオン (以下, F) 及び塩化物イオン (以下, Cl) 各20mg/L, 亜硝酸イオン (以下, NO_2), 臭化物イオン (以下, Br), 硝酸イオン (以下, NO_3) 及び硫酸イオン (以下, SO_4) 各100mg/L, リン酸イオン (以下, PO_4) 200mg/L) を含む和光純薬工業製JCSS試薬を用いた. 塩素酸イオン (以下, ClO_3) 標準液 (1000mg/L), 亜塩素酸イオン (以下, ClO_2) 標準液 (1000mg/L) 及び BrO_3 標準液 (2000mg/L) は関東化学製のJCSSまたはイオンクロマトグラフィー用試薬を用いた. 亜硝酸性窒素標準液 (Nとして100mg/L) は和光純薬工業製JCSS試薬を用い, NO_2 としての濃度に換算して実験に用いた. 標準液は適宜, 超純水で希釈した. 炭酸ナトリウム, 炭酸水素ナトリウム, 亜硝酸ナトリウム及び臭化カリウムは和光純薬工業製特級試薬を, 硫酸は和光純薬工業製有害金属分析用試薬を用いた. フィルターはGLサイエンス製イオンクロマトグラフ用孔径 $0.2\mu\text{m}$ を用いた.

3. 炭酸入り超純水 (以下, 炭酸超純水), 炭酸MW

炭酸超純水は次のように調製した. まず, 予め冷却した超純水を容量約150mLのヘッドスペースボトルに入れて密栓した. 炭酸ガスを入れたテドラーバッグに注射シリンジを接続し, 注射針をボトルキャップのセプタム部分に差し込んだ. 注射シリンジを用いてボトル内に炭酸ガスを繰り返し吹き込みながら混和し, 超純水中に十

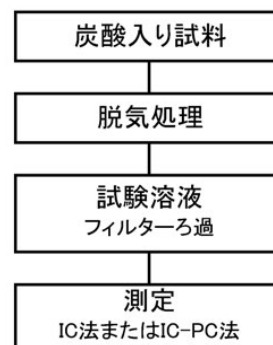


図1 分析フロー

分に溶解させた⁵⁾。

炭酸MWは国産2検体（製品A：硬度19~50mg/L及びB：硬度10~35mg/L）、外国産1検体（製品C：ドイツ産、硬度1310mg/L）（硬度は成分表示記載に基づく数値）を用いた。

4. 分析法

通知法⁴⁾及び水道法告示法⁶⁾に準じ、陰イオン類はイオンクロマトグラフー斉分析法（以下、IC法）を、 BrO_3^- はイオンクロマトグラフ-ポストカラム吸光光度法（以下、IC-PC法）を用いた。分析フローは図1に示した。分析条件は以下に示した。

（1）陰イオン類

カラム：Ion Pac AS9-HC、内径4mm、長さ250mm（サーモフィッシャーサイエンティフィック製）

溶離液：9mM 炭酸ナトリウム水溶液、1mL/分

カラム温度：35℃

検出器：電気伝導度検出器

注入量：100 μL

（2） BrO_3^-

カラム、溶離液、カラム温度：（1）と同じ

反応液A：1.2mmol/L亜硝酸ナトリウム溶液、200 μL /分

反応液B：臭化カリウム-硫酸溶液、400 μL /分

反応コイル温度：40℃

検出器：UV 検出器 測定波長268nm

注入量：250 μL

5. 添加試料

陰イオン類の添加試料は炭酸超純水に陰イオン混合標準液0.5mL、100mg/L ClO_2^- 標準液0.3mL及び100mg/L ClO_3^- 標準液0.3mLを添加したのち全量50mLとした。 BrO_3^- は炭酸MWに1mg/L BrO_3^- 標準液を0.5mL添加したのち全量50mLとした。対照として超純水に同様に添加した試料についても調製した。

6. 添加回収試験

添加試料を1日2併行で、5日間分析を行い、真度及び精度を推定し、厚生労働省の妥当性確認ガイドライン⁷⁾に示された目標値と比較した。

7. 炭酸入り試料中での陰イオン類の安定性

陰イオン類を炭酸超純水に添加した試料を容量約20mLのヘッドスペースバイアルに分注して密栓したものを4℃で保存した。この試料を一定期間毎に測定し、炭酸入り試料中での各成分の安定性について確認した。添加濃度は添加回収試験と同一濃度とした。陰イオン類9成分（F、 NO_2^- 、 NO_3^- 、 ClO_2^- 、 ClO_3^- 、Cl、Br、 PO_4^{3-} 及び SO_4^{2-} ）を全て混合して添加した場合、 NO_2^- 、 ClO_2^- 及び ClO_3^- を単一で添加した場合、3成分を組合せて添加した場合

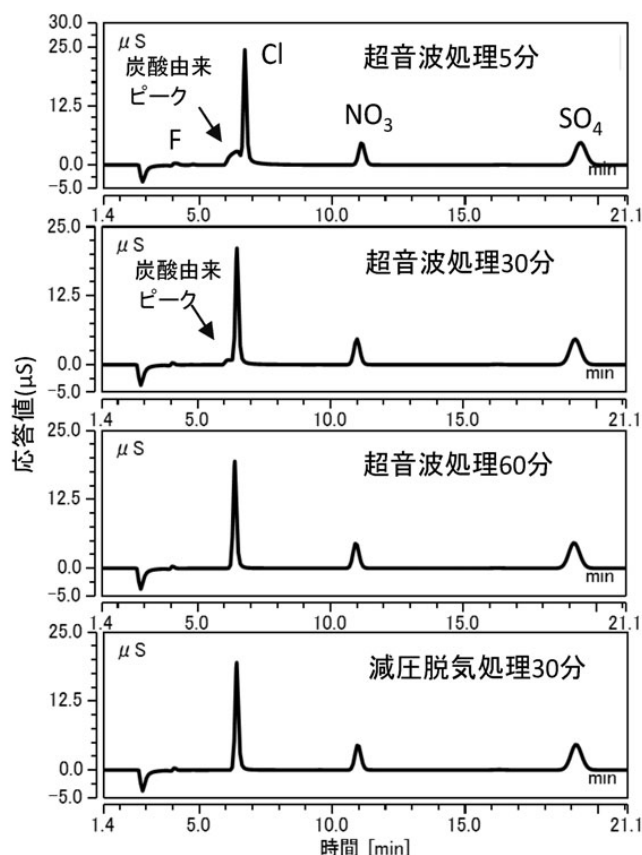


図2 陰イオン類分析の脱気処理の検討
製品Aのイオンクロマトグラム

($\text{NO}_2^- + \text{ClO}_2^-$ 、 $\text{NO}_2^- + \text{ClO}_3^-$ 及び $\text{ClO}_2^- + \text{ClO}_3^-$) について検討を行った。対照として超純水に添加した試料についても測定を行った。

結果および考察

1. 脱気条件の検討

（1）陰イオン類

測定対象物質は基準項目5項目（F、 NO_2^- 、 NO_3^- 、 ClO_2^- 及び ClO_3^- ）及び基準外4項目（Cl、Br、 PO_4^{3-} 及び SO_4^{2-} ）

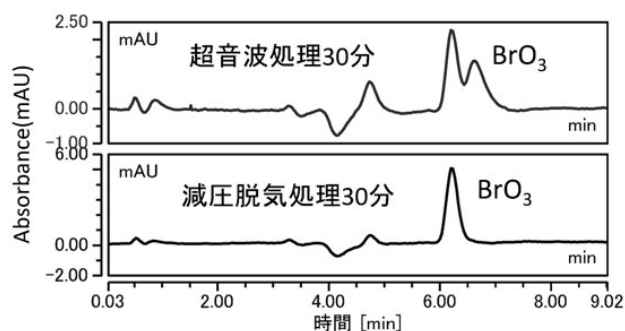


図3 BrO_3^- 分析の脱気処理の検討
製品Aの添加試料のイオンクロマトグラム

表1 添加回収試験の結果（1日2併行、5日間）

物質名	規格基準	殺菌・除菌 ¹⁾		添加濃度 (mg/L)	添加用 ブランク試料	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
		有	無					
F	2mg/L以下	○	○	0.2	炭酸 超純水	100.2	3.2	3.2
NO ₂	10mg/L以下 ²⁾	○	○	1		95.8	1.2	2.1
NO ₃				1		98.3	1.3	3.6
ClO ₂	0.6mg/L以下	○	—	0.6		94.7	0.6	1.5
ClO ₃	0.6mg/L以下	○	—	0.6		99.1	0.6	1.7
Cl	—	—	—	0.2		105.4	5.4	5.4
Br	—	—	—	1		97.9	1.0	1.0
PO ₄	—	—	—	1		97.3	0.9	0.9
SO ₄	—	—	—	1	98.7	1.8	1.8	
BrO ₃	0.01mg/L以下	○	—	0.01	製品A	102.3	1.2	2.2
妥当性確認ガイドラインの目標値				陰イオン類		90-110	室内精度の 目標値以下	10>
				BrO ₃				5>

1) MW成分規格における試料の区分

2) 硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の合算値としての基準値

○：規制対象、—：規制対象外

とした。

試料中の炭酸ガスを脱気するため、超音波処理を試みた。炭酸MW（製品A）約20mLを50mL比色管に入れ、5分から60分間超音波処理を行い、IC法により測定を行った。イオンクロマトグラムを図2に示した。超音波処理5分から30分では炭酸由来と思われるピークが保持時間約6.4分に検出され、Clのピークと重なった。炭酸由来のピークは処理時間が長くなるにつれてピーク高が減少し、処理時間60分では検出されなかった。また炭酸由来のピークが検出された場合には、各イオンの保持時間が遅れる傾向があり、特にClで顕著であった。

次に吸引ポンプによる減圧脱気処理を検討した。製品Aを50mL三角フラスコに約30mL採り、攪拌子（長さ2cm）を入れ、吸引ろ過鐘内に置いた。スターラーで攪拌しながら、密栓したろ過鐘内の空気を30分間吸引ポンプで吸引し、減圧脱気したものをIC法により測定した。その結果、図2のように炭酸由来ピークは認められなかった。減圧脱気の方が超音波処理に比べて短時間で炭酸ガスが効果的に除去できることがわかった。

（2）BrO₃

製品AにBrO₃標準液を添加した試料に対し、超音波処理または減圧脱気を行い、IC-PC法により測定を行った。その結果、図3のように超音波処理30分ではBrO₃のピークは2つに分かれたが、減圧脱気処理30分ではピーク形状は良好であった。超音波処理60分についても測定を行っ

たところ、BrO₃のピークは2つに分かれたものの、処理30分に比べるとピーク形状は若干改善した。BrO₃分析では陰イオン類分析に比べて注入量が多いため、超音波処理60分でもピークに影響が生じたと思われた。また、BrO₃分析の場合、炭酸由来のピークは測定波長に吸収がないため、クロマトグラム上には検出されなかったが、BrO₃のピーク保持時間（約6.2分）の近傍に溶出されていると思われた。そのため炭酸ガスの除去が不十分であるとピーク形状に影響を及ぼしたと考えられた。

以上のことから、試料中から炭酸を除去し、検査を迅速に行うため、試料の前処理として30分間減圧脱気を行うこととし、検討を進めた。なお、超純水に添加した標準液ではこの減圧脱気処理を行っても各成分の濃度が変化しないことを確認した。

3. 添加回収試験

陰イオン類は炭酸超純水に、BrO₃は炭酸MW（製品A）に添加した試料を用い、30分間減圧脱気を行った後、IC法またはIC-PC法で測定を行った。1日2併行で、5日間分析を行った結果を表1に示した。測定を行った陰イオン類9成分及びBrO₃は真度、精度ともガイドラインの目標値を満たし、良好な結果となった。今回の添加回収試験では基準項目のうちF、NO₂及びNO₃の添加用標準液は便宜上、陰イオン混合標準溶液を用いたため、基準値より低い添加濃度で実施した。実際の検査に適用する際には、基準値濃度についても確認すべきと思われる。

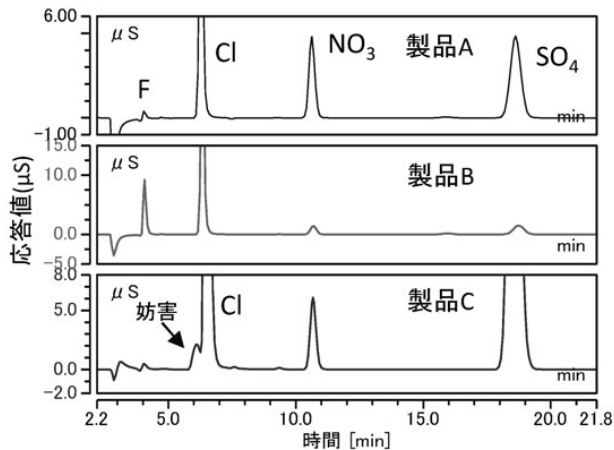
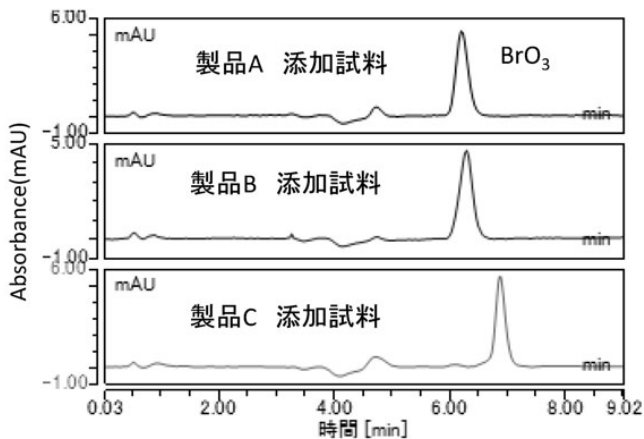
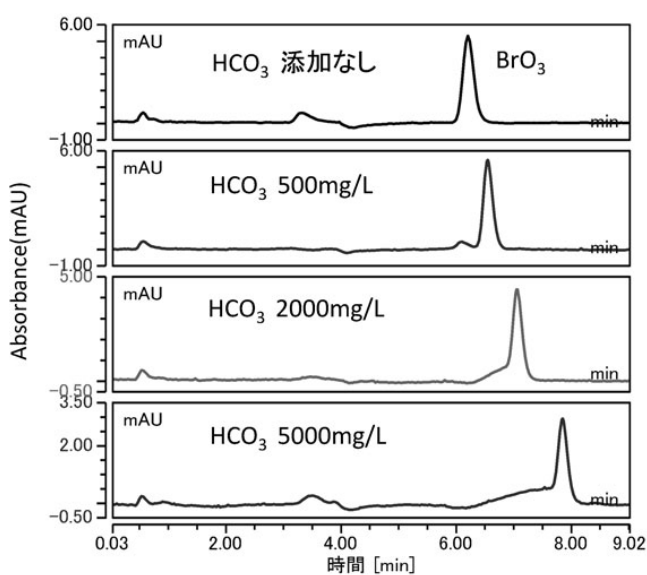


図4 炭酸MWの陰イオンクロマトグラム

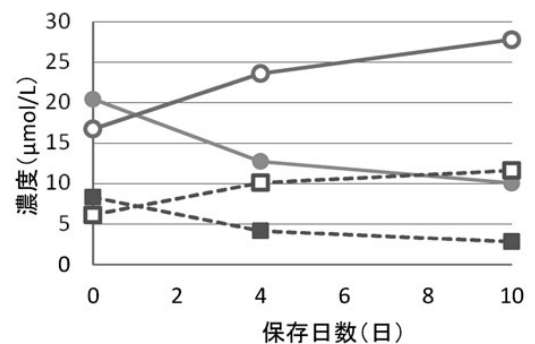
図5 炭酸MW添加試料のBrO₃イオンクロマトグラム図6 炭酸水素イオンの量によるBrO₃ピークへの影響
BrO₃標準液 (10 μg/L) のクロマトグラム

3. 炭酸MWの分析

(1) 陰イオン類 (基準項目F, NO₂, NO₃, ClO₂及びClO₃)

実試料の成分規格検査に適用可能か確認するため、炭酸MW (製品A, B及びC) を用いて測定を行った。クロマトグラムを図4に示した。製品A及びBについては妨害ピークもなく、試験溶液で検出されたF及びNO₃のピークは標準溶液の保持時間と一致した。製品Cでも検出されたピークは標準溶液と保持時間がほぼ一致したが、Cl (基準外) のピークに妨害ピークが重なった。製品Cの成分表示を確認したところ、重炭酸 (炭酸水素) イオン (以下、HCO₃) の含有量が1770mg/Lと多いものであった。そこで炭酸水素ナトリウム溶液を希釈して測定したところ、同じ保持時間にピークが検出された。また、製品Cは減圧脱気後の試験溶液に白い沈殿を生じた。この製品は成分表示に記載された硬度が1310mg/Lで、硬度の高いものであった。そこで脱気後、生じた沈殿を定量ろ紙5Cでろ過して除去したものを水道法告示法に準じて滴定法で硬度を測定した。その結果、硬度は元の水より減少していた。このことから沈殿は試料中の炭酸塩硬度⁸⁾が原因と考えられ、減圧により炭酸ガスが除去された

A: 9成分混合



B: NO₂+ClO₂混合

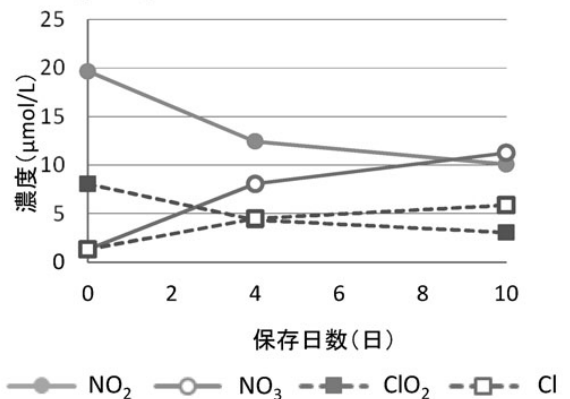


図7 炭酸超純水添加試料中での陰イオン類の濃度変化

A: 炭酸超純水に陰イオン類9成分を混合して添加

B: 炭酸超純水にNO₂及びClO₂を混合して添加

ため、水中に含まれる水溶性の炭酸水素カルシウムや炭酸水素マグネシウムが不溶性の塩（炭酸カルシウム、水酸化マグネシウム）となり析出したと推察された。この沈殿はイオンクロマトグラフ用の孔径 $0.2\mu\text{m}$ のフィルターで目詰まりせずに除去できた。

(2) BrO_3^-

BrO_3^- については製品A、B及びCは BrO_3^- を含有しないため、添加試料を調製して測定を行った。クロマトグラムを図5に示した。製品A及びBの添加試料は標準液と試験溶液の保持時間が一致したが、製品Cでは標準液に比べ、保持時間が遅くなった。この現象についても HCO_3^- が原因と考えられたため、 BrO_3^- 標準液に HCO_3^- 濃度として0～5000mg/Lとなるように炭酸水素ナトリウム溶液を段階的に加えて測定したところ、図6のように HCO_3^- の濃度が高くなるにつれて BrO_3^- の保持時間が遅くなった。

HCO_3^- が非常に高濃度の試料では脱気処理により気体で存在する炭酸ガスは十分に除去できたが、除去できなかった HCO_3^- の影響が溶出時間が近傍となるCl及び BrO_3^- のピークに顕著に生じた。なお、製品Cは殺菌・除菌無の製品であるため、MWの成分規格では BrO_3^- は基準外の項目であった。殺菌・除菌有で、 HCO_3^- が非常に高濃度に含有するMWを検査する場合には前処理法、カラムの種類を変更するなどより良い分析条件が必要と考えられる。

4. 炭酸入り試料中での陰イオン類の安定性

炭酸超純水に添加した試料を10日間保存した場合の陰イオン類の濃度変化をモル濃度に換算して図7に示した。陰イオン類9成分を炭酸超純水に添加した場合、図7-Aに示したように、保存期間が長くなるにつれて NO_2^- 及び ClO_2^- の濃度は減少し、 NO_3^- 及びClの濃度が明らかに増加した。その他の5成分については顕著な濃度変化はみられなかった。無炭酸の超純水に添加した場合にはすべての成分で保存期間中に顕著な濃度変化はなかった。

炭酸超純水に NO_2^- 、 ClO_2^- または ClO_3^- を単一成分で添加した場合には保存期間中の濃度変化は生じなかった。3成分の標準液を組合せて添加した場合（ $\text{NO}_2^- + \text{ClO}_2^-$ 、 $\text{NO}_2^- + \text{ClO}_3^-$ 及び $\text{ClO}_2^- + \text{ClO}_3^-$ ）は NO_2^- 及び ClO_2^- が共存した場合（ $\text{NO}_2^- + \text{ClO}_2^-$ ）に9成分を混合して添加した場合と同様に、保存期間が長くなるにつれて NO_2^- 及び ClO_2^- の濃度は減少し、 NO_3^- 及びClの濃度が増加した。 $\text{NO}_2^- + \text{ClO}_2^-$ の結果を図7-Bに示した。この濃度変化は NO_2^- の減少量が NO_3^- の増加量と、 ClO_2^- の減少量がClの増加量とほぼ一致し、炭酸存在下では NO_2^- が NO_3^- に、 ClO_2^- がClに変化したと推察された。

MWは水道水とは異なり、製品として容器詰めされたのち、販売まである程度長期間保存される。炭酸MW中では含有する成分によっては保存期間中に濃度変化が生

じる場合があることが明らかとなった。また、今回の添加回収試験の結果では NO_2^- 及び ClO_2^- の添加回収率（真度）は他の項目に比べ低い傾向がみられた（表1）。この2成分について妥当性確認を実施するときは、混合せずに別々に添加するとより良好な結果が得られると考えられた。

まとめ

(1) 炭酸MWの陰イオン類及び BrO_3^- の分析において、前処理として減圧脱気処理を30分間行うことで、試料中の炭酸ガスを除去することができた。

(2) 上記の方法を用いて陰イオン類9成分及び BrO_3^- について添加回収試験を行ったところ、すべての項目で真度、精度とも妥当性確認ガイドラインの目標値を満たし、良好な結果となった。

(3) 実試料の成分規格検査に適用可能か確認するため、3種類の炭酸MWを用いて分析を行った。陰イオン類の基準項目F、 NO_2^- 、 NO_3^- 、 ClO_2^- 及び ClO_3^- についてはいずれも適用可能であった。 BrO_3^- については製品A及びBでは適用可能であったが、 HCO_3^- を高濃度に含有する製品Cでは BrO_3^- の保持時間が標準溶液に比べ遅くなった。

(4) 炭酸超純水に NO_2^- 及び ClO_2^- を同時に添加した場合には、保存中にこの2成分の濃度は減少し、 NO_3^- 及びClが増加した。妥当性確認を実施するときは注意を要する。

文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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) インライン脱気デバイスCRDを用いたミネラル炭酸水中の陰イオン分析、Application Note IC14004、サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社（2014）
- 3) 福田優作、片岡洋平、佐野勇気、滝澤和宏、渡邊敬浩、手島玲子：ミネラルウォーター類中のシアンおよび臭素酸を対象とした分析法の開発と適用性の検証、食衛誌、56(6)、256-262（2015）
- 4) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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
- 5) 上村仁、仲野富美、佐藤学、西以和貴、辻清美：炭酸入りミネラルウォーターの成分規格試験法の検討－揮発性有機化合物－、神奈川衛研報告、47、32-35（2017）
- 6) 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

- 7) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：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

- 8) 上水試験法2011年版 II 理化学編，pp.113，日本水道協会，東京（2011）