

ミネラルウォーター類中のクロロ酢酸類一斉試験法の 妥当性評価について

山本 直美、藤原 遥香、池田 耕介、北吉 姫乃、田畑 佳世、神藤 正則

要旨

令和 3 年 6 月に食品、添加物等の規格基準が一部改正¹⁾され、ミネラルウォーター類中のクロロ酢酸、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸の基準値が新たに設定された。当所において、ミネラルウォーター類中のクロロ酢酸類一斉試験法の検査実施標準作業書を作成するにあたり、試験法の検討を行い、「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」の一部改正について²⁾(以下、ガイドライン)に従って妥当性評価を実施した。結果、真度、併行精度及び室内精度について、ガイドラインの目標値を満足しており、本試験法の妥当性が確認された。

キーワード：ミネラルウォーター類、妥当性評価、クロロ酢酸類、LC-MS/MS

1. はじめに

令和 3 年 6 月にミネラルウォーター類の規格基準の一部改正¹⁾が行われ、クロロ酢酸は「0.02 mg/L 以下であること」、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸は「0.03 mg/L 以下であること」という基準値が新たに設定された。

これに伴って、「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」の一部改正について³⁾を基に、ミネラルウォーター類中のクロロ酢酸類一斉試験法の検査実施標準作業書を新規で作成することとなった。通知試験法から若干の検討を行い、試験法を作成し、本試験法が妥当であるかどうかをガイドラインに基づき確認を行ったので報告する。

2. 材料及び方法

1) 標準品及び試薬

(1) 標準品

関東化学株式会社製のハロ酢酸 4 種混合標準液 JCSS 化学分析用 (水質試験用) (1,000 mg/L) を用いた。

(2) 試薬等

富士フイルム和光純薬株式会社製のメタノール、ギ酸 (LC/MS 用)、硝酸性窒素標準液 (NO_3^- (N として) 1,000 mg/L)、塩化物イオン標準液 (Cl^- 1,000 mg/L) 及び硫酸イオン標準液 (SO_4^{2-} 1,000 mg/L) を用いた。また、アドバンテック東洋株式会社製のメンブレンフィルター (孔径 0.45 μm) を使用した。

2) 標準液の調製

(1) 標準溶液の調製

ハロ酢酸 4 種混合標準液 (1,000 mg/L) をメタノールで希釈し、100

mg/Lとなるように調製した。続いて超純水で希釈し、5 mg/L 及び 0.1 mg/Lとなるように調製した。

(2) 検量線用標準溶液の調製

検量線用標準溶液は、0.002、0.005、0.01、0.02 及び 0.05 mg/L となるように超純水で調製した。

3) 試料

試験法の検討に当たっては、超純水を使用した。妥当性評価に当たっては、市販のミネラルウォーター（殺菌又は除菌を行うもの）を用いた。

4) 試験溶液の調製

試験溶液の調製は、図 1 のフローに従って実施した。試料をメンブレンフィルターでろ過し、その液を試験溶液とした。

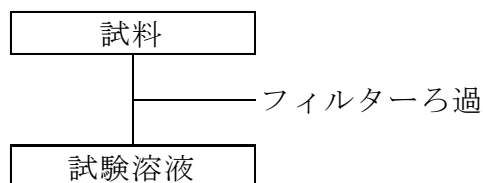


図 1 試験溶液の調製方法

5) 装置及び測定条件

LC-MS/MS 装置及び測定条件を、表 1、表 2 及び表 3 に示す。

表 2 に示すように、比較的感度の低いクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸の感度を向上させるため、クロロ酢酸及びジクロロ酢酸とトリクロロ酢酸で ESI 条件を変更した。

表 1 LC-MS/MS 装置及び測定条件

LC	株式会社エービー・サイエックス製 Exion LC AC
MS/MS	株式会社エービー・サイエックス製 QTRAP5500
分離カラム	GLサイエンス株式会社製 InertSustain HP C18 内径2.1 mm 長さ150 mm 3 µm
移動相	A液：0.2%ギ酸 B液：メタノール
グラジエント条件	B液 (%)：10% (0-1分) - 25% (5分) - 95% (11-15分) - 10% (15-22分)
カラム温度	30℃
流量	0.2 mL/min
注入量	10 µL
イオン化法	ESI (-)
測定モード	MRM

表 2 LC-MS/MS の ESI 条件

ESI条件	化合物名	クロロ酢酸	トリクロロ酢酸
		ジクロロ酢酸	
カウンターガス圧 (CUR) (psi)		30	30
コリジョンガス圧 (CAD)		6	6
脱溶媒ガス温度 (TEM) (°C)		400	300
ネブライザーガス圧 (GS1) (psi)		80	50
脱溶媒ガス圧 (GS2) (psi)		80	80
印加電圧 (IS) (V)		-4500	-4500

表 3 対象物質と測定イオン

対象物質	プレカーサーイオン (m/z)	プロダクトイオン (m/z)	
		定量	定性
クロロ酢酸	93	35	49
ジクロロ酢酸	127	83	35
トリクロロ酢酸	161	117	35

6) 陰イオン性化合物による影響に関する検証

LC-MS 分析を行う際に、陰イオン性化合物が数 mg/L 以上の高濃度で含まれている水道水では、クロロ酢酸類のイオン化に影響を与える可能性が指摘されている⁴⁾。それを踏まえて通知³⁾では、試料中に共存する塩化物イオン及び硫酸イオン等を陽イオン交換樹脂カラムで除去する方法が採用されている。当所における試験法構築に当たり、陽イオン交換樹脂カラムでの精製を行わない場合にどの程度マトリックスによる影響を受けるのか、検証を行った。陰イオン性化合物を含む模擬試料を作製し 3 併行で添加回収試験を実施した。模擬試料として超純水に表 4

のとおり陰イオン性化合物を添加し、3 パターンの試料を作製した。そこにクロロ酢酸類が 0.002 mg/L もしくは 0.02 mg/L の濃度となるように添加し、図 1 の方法に従い添加回収試験を実施した。なお、陰イオン性化合物の添加濃度は、日本の水質基準項目の基準値並びに WHO の飲料水水質ガイドラインを参考に設定し、基準値濃度を高濃度とし、その 1/2 濃度を中濃度、1/4 濃度を低濃度とした。

表 4 模擬試料における陰イオン性化合物の添加濃度

化合物名	陰イオン性化合物添加濃度 (mg/L)		
	①低濃度	②中濃度	③高濃度
硝酸イオン (Nとして)	2.5	5	10
塩化物イオン	50	100	200
硫酸イオン	62.5	125	250

7) 妥当性評価

選択性について、試料を測定し定量を妨害するピークがないか、ある場合はそのピークが添加濃度のピークの 1/10 未満であることを確認した。

真度及び精度について、試料に混合標準溶液をクロロ酢酸の基準値濃度である 0.02 mg/L となるように添加し、添加回収試験を実施した。ガイドラインに基づき、分析者 1 名が、2 併行 5 日間の添加回収試験を実施し、表 5 に従って評価した。ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸の基準値は 0.03 mg/L であるが、より基準値の低いクロロ酢酸に合わせて 0.02 mg/L で評価を行った。

表 5 真度及び精度の目標値

対象物質	濃度	真度 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
クロロ酢酸 ジクロロ酢酸 トリクロロ酢酸	基準値	90~110	室内精度の 目標値以下	15>

3. 結果及び考察

1) 陰イオン性化合物による影響に関する検証

陰イオン性化合物を添加した超純水(模擬試料)及び添加していない超純水を用いて、添加回収試験を実施した。図 2 にクロロ酢酸類を 0.002 mg/L となるように添加した場合、図 3 に 0.02 mg/L となるように添加した場合の結果を示す。

各添加濃度において、クロロ酢酸及びトリクロロ酢酸はマトリックスによる影響はあまり受けておらず、それぞれの回収率はクロロ酢酸で 85~93%、トリクロロ酢酸で 100~117%の範囲となった。一方で、ジクロロ酢酸においては、マトリックスによるイオン化促進が見られ、回収率は 120~144%の範囲となった。これらの結果より、本試験法においてクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸ではマトリックスによる影響はあまり受けないが、ジクロロ酢酸ではマトリックスによるイオン化促進を受けることが示唆された。

当所に搬入されるミネラルウォーター類の検体は陰イオン性化合物濃度が低い検体であり、陰イオン性化合物による影響は少ないと考え、以降の妥当性評価では図 1 に示す試験法に従い実施した。

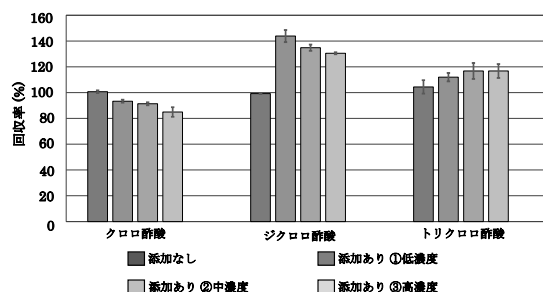


図 2 添加回収試験結果 (0.002 mg/L) (n=3)

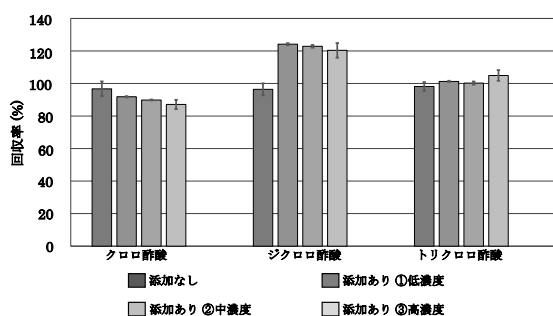


図3 添加回収試験結果 (0.02 mg/L) (n=3)

2) 妥当性評価

選択性について、定量を妨害するピークがないことを確認した。

実施した添加回収試験の真度、併行精度及び室内精度を表6に示した。

クロロ酢酸、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸のすべてにおいて、ガイドラインの目標値を満たしていた。よって、今回評価した試験法は、妥当であると確認することができた。

表6 妥当性評価結果

対象物質	添加濃度 (mg/L)	真度 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
クロロ酢酸	0.02	95	2.4	2.3
ジクロロ酢酸	0.02	102	1.9	2.2
トリクロロ酢酸	0.02	102	1.6	2.6

4. まとめ

クロロ酢酸類一斉試験法の検査実施標準作業書の作成にあたり、妥当性評価を

実施した。ガイドラインの目標値を満たし、試験法は妥当であると評価することができた。

5. 参考文献

- 1) 食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について (清涼飲料水の規格基準の一部改正) (令和3年6月29日付け生食発0629第4号)
- 2) 「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」の一部改正について (令和3年8月31日付け生食発0831第17号)
- 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」の一部改正について (令和3年8月31日付け生食発0831第11号)
- 4) Quantification of Haloacetic Acids in TapWater Using a Dedicated HAA LC Column with LC-MS/MS Detection. (Thermo Fisher Scientific, Application Note 590)