

参考資料 3

2024 年 9 月 6 日

第 3 回食品衛生基準審議会

その他の報告事項に関する

参考資料

目次

令和三年度 食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費報告書（ミネラルウォーター類中の化学物質濃度の実態調査に係る試験検査報告）	3
---	---

令和四年度 食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費報告書（ミネラルウォーター類中の化学物質濃度の実態調査に係る試験検査報告）	14
---	----

令和三年度

食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費報告書

ミネラルウォーター類中の化学物質濃度の実態調査に係る

試験検査報告

国立医薬品食品衛生研究所 食品部

鈴木 美成

堤 智昭

1. 目的

清涼飲料水(ミネラルウォーター類)の規格基準については、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)及び平成 26 年 12 月 22 日付け食安発 1222 第1号「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」により見直しがなされ、国際規格や水道の水質基準等を踏まえつつ成分規格の見直しを行ってきたところである。

パーフルオロアルキルおよびポリフルオロアルキル物質(PFAS: Per- and polyfluoroalkyl substances)は、ペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)、ペルフルオロオクタン酸(PFOA)および他の多くの化学物質を含む人工化学物質群である。PFAS は、1940 年以降、米国をはじめ世界中のさまざまな産業で製造・使用されてきた。PFOS と PFOA は、これらの化学物質の中で最も広く生産され、研究されている。どちらの化学物質も環境中および人体内で非常に難分解性であり、分解されず、時間の経過とともに蓄積する可能性がある。PFAS へのばく露がヒトの健康に有害な影響をもたらす可能性が示されてきた。

このような背景を受け、近年、海外において飲料水中の PFAS 濃度について目標値が設定されるなどの動きがあり、新たな知見が蓄積しつつあるところ、我が国においても令和2年3月に PFAS の一種である PFOS 及び PFOA について、暫定的な水道の水質管理目標値が設定された。このことから、ミネラルウォーター類についても、規格基準の設定等が必要か否か検討するため、市場に流通する製品に含まれる当該物質の実態調査を実施することとした。

2. 試料

市場流通するミネラルウォーター類をインターネットで販売しているものを購入した。外国産と日本産の内訳は次の通りであった。日本産:126 試料、外国産:34 試料。

3. 分析方法

PFOA 及び PFOS の分析には、厚生労働科学研究「食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発のための研究」により開発された試験法を用いた。

3-1. 実験装置

- ・ 遠心エバポレーター: CVE-3110 (EYELA 社製)
- ・ 冷却トラップ装置: UT-1000 (EYELA 社製)
- ・ 固相抽出用吸引マニホールド: イナートセップ吸引マニホールド (GL Sciences 社製)
- ・ UPLC: ACQUITY UPLC H-Class (Waters 社製)
- ・ MS: Xevo TQD (Waters 社製)
- ・ 解析ソフト: MassLynx Version 4.1 (Waters 社製)

3-2. 試薬及び試液の調製

- ・ PFOS 混合の標準品:PERFLUOROALKYLSULFONATE(PFAS) C₄-C₁₀ NATIVE MIXTURE UNLABELED (GL Sciences 社製)
- ・ PFOA 混合の標準品:PERFLUOROALKYLCARBOXYLIC ACID (PFCA) C₄-C₁₄ NATIVE MIXTURE (UNLABELED) (GL Sciences 社製)
- ・ 内部標準原液:Sodium perfluorooctanesulfonic acid-¹³C₈ (Wellington Laboratory 社製)、Perfluorooctanoic acid-¹³C₈ (Wellington Laboratory 社製)
- ・ メタノール (高速液体クロマトグラフ用、富士フイルム和光純薬社製)
- ・ 酢酸アンモニウム (試薬特級、富士フイルム和光純薬社製)
- ・ ギ酸 (試薬特級、98.0%、富士フイルム和光純薬社製)
- ・ アセトニトリル (高速液体クロマトグラフ用、富士フイルム和光純薬社製)
- ・ アンモニア水 (試薬特級、28%、シグマアルドリッチ社製)
- ・ 固相抽出カラム:Presep PFC- II (60 mg/3 mL) (富士フイルム和光純薬社製)

3-3. 器具

- ・ ガラス製メスフラスコ (販売元:アズワン)
 - ・ ガラス製ナスフラスコ (販売元:東京硝子器械)
 - ・ ガラス製試験管 (販売元:AGC テクノグラス)
 - ・ ガラス製三角フラスコ (販売元:AGC テクノグラス)
- ☆ 以上の器具は、使用前にメタノールで十分に超音波洗浄後に使用した。
- ・ バイアル:ポリプロピレンプラスチック 300 μ L (Waters 社製)

3-4. 分析用試料の調製

PFOS 混合の標準品 5 μ g/mL と PFOA 混合の標準品 2 μ g/mL を、それぞれガラス製メスフラスコを用いてメタノールで希釈し、PFOS と PFOA の混合標準品 100 ng/mL 分析用試料を調製した。内部標準物質はメタノールで 100 ng/mL に混合調製した。

3-5. 試料測定溶液の調製

固相抽出カラムをアセトニトリル 5 mL と 1%ギ酸含有 30%アセトニトリル 5 mL でコンディショニングした。さらに、ガラス製ナスフラスコにサンプル 100 mL とアセトニトリル 45 mL、ギ酸 1.5 mL を添加して調製した溶液を通液した。通液後、30%アセトニトリル 5 mL でカラムを洗浄し、マニホールドの栓を全開にしてカラムを乾燥させた。その後、0.1%アンモニウム含有アセトニトリル 3 mL を通して溶出し、試験管で回収した。この溶出液を遠心エバポレーターで濃縮乾固し、移動相の初期組成溶媒 500 μ L で再溶解した。再溶解した溶液を LC-MS/MS で測定した。

[分析法フローチャート]

試料 100 mL

↓ アセトニトリル 45 mL

↓ ギ酸 1.5 mL

Presep PFC- II (60 mg/3 mL)

↓ アセトニトリル 5 mL、1%ギ酸含有 30%アセトニトリル 5 mL で

↓ コンディショニング

↓ 試料注入

↓ 30%アセトニトリル 5mL で洗浄

↓ 乾燥(10 分間)

↓ 0.1%アンモニウム含有アセトニトリル 3 mL で溶出

濃縮乾固

↓ 移動相初期組成溶媒 500 μ L で再溶解

LC-MS/MS (注入量:10 μ L)

3-6. 検量線用測定溶液の調製

100 ng/mL 混合標準品をメタノールで希釈し、定量下限値 (LOQ) 0.5 ng/mL から 50 ng/mL ま
で 7 点 (100 μ L) の検量線用測定溶液を調製した。これらの測定溶液にそれぞれ 100 ng/mL
の内標準物質 10 μ L 添加し、ボルテックスを用いてよく攪拌した。この溶液を濃縮し、移動相
の初期組成溶媒 100 μ L で再溶解した。

3-7. 装置及び分析条件

- ・測定モード: エレクトロスプレーイオン化法 (ESI) ネガティブモード
- ・分離カラム: TSKgel ODS-100V (東ソー社製)
- ・Delay column: Delay column for PFAS (サイズ 3.0 $\times$ 30 mm、GL Sciences 社製)
- ・移動相: 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液 (溶離液 A) と 5 mmol/L 酢酸アンモニウム含有メ
タノール (溶離液 B)
- ・グラジエント条件: 45/55 (0-3 min) $\rightarrow$ 2/98 (16-18 min) $\rightarrow$ 45/55 (18.1-20 min)

その他の LC-MS/MS 条件は表 1 に示した通りで行った。また、PFOA および PFOS の MS ス
ペクトルと MS/MS スペクトルを図 1 に示す。

表 1. LC-MS/MS 条件

略式名称	分子量	Precursor ion (m/z)	Cone voltage (V)	Fragment ion (m/z)	Collision energy (eV)
PFOA	414.1	413	20	369	10
$^{13}\text{C}_8$ -PFOA	422.1	421	15	376	10
PFOS	500.1	499	65	80	50
$^{13}\text{C}_8$ -PFOS	508.1	507	65	80	50

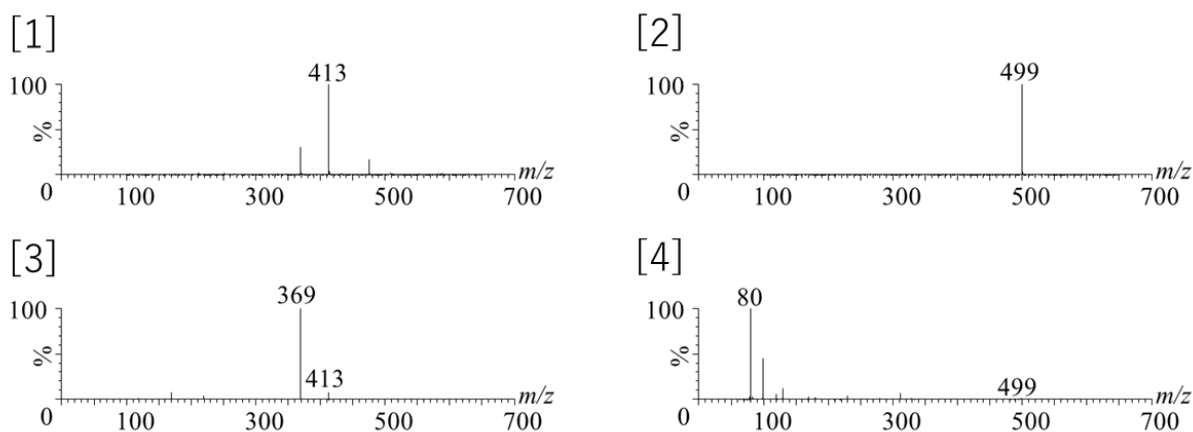


図 1. MS スペクトルと MS/MS スペクトル

[1] PFOA:MS スペクトル, [2] PFOS:MS スペクトル,
[3] PFOA:MS/MS スペクトル, [4] PFOS:MS/MS スペクトル

3-8. 定量

検出限界 (Limit of Detection: LOD) と定量下限 (Limit of Quantification: LOQ) は、分析対象化合物のシグナルノイズ比 (signal-to-noise ratio: S/N) に基づき、LOD は $S/N \geq 3$ 、LOQ は $S/N \geq 10$ と設定した。定量には内標準法を用いて行い、3-6. で作成した検量線用測定溶液を用いて PFOA および PFOS 標準溶液それぞれに対応した内標準物質のピーク面積比の値と濃度を用いて検量線を作成した。代表的な検量線の例を図 2 に示す。また、得られたクロマトグラムを図 3 に示す。

1 試料の測定により得られた検出値を分析値とし、濃縮倍率 200 倍より試料当たりの定量値を算出した。また、試料当たり 2.5 ng/L、5 ng/L、12.5 ng/L、25.0 ng/L となるように標準品を添加した試料を調製し、添加回収試験を行った。標準品添加ペットボトル水と標準品未添加ペットボトル水中の PFAS の定量値を比較し、添加回収率を算出した。添加回収率は、 $(C - C_0)/S \times 100 (\%)$ で算出した。ここで、 C は標準品を添加したペットボトル水中 PFAS 濃度、 C_0 は標準品を添加していないペットボトル水中 PFAS 濃度、 S は添加した標準品の濃度を示す。

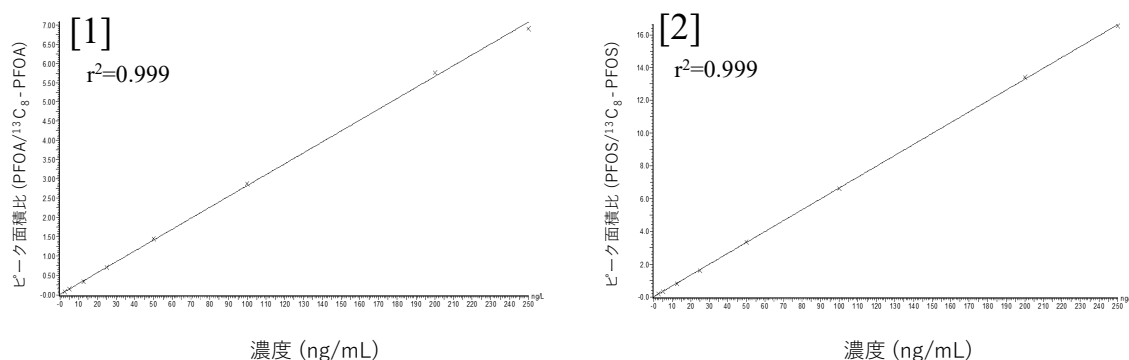


図 2. 代表的な検量線の例

[1] PFOA, [2] PFOS

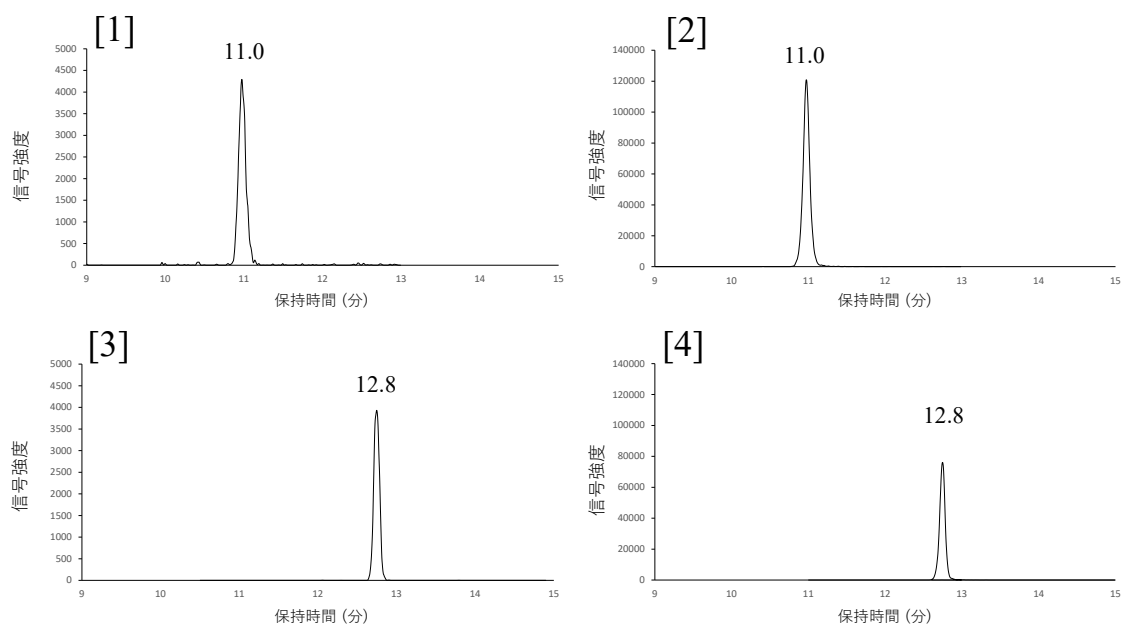


図 3. 代表的な PFAS 検量線のクロマトグラム

[1] PFOA, 0.5 ng/mL (LOQ), m/z 413→369

[2] $^{13}\text{C}_8$ -PFOA, 10 ng/mL, m/z 421→376

[3] PFOS, 0.5 ng/mL (LOQ), m/z 499→80

[4] $^{13}\text{C}_8$ -PFOS, 10 ng/mL, m/z 507→80

4. 添加回収試験の結果

添加試料から得た分析値の添加濃度に対する比率を回収率として求めた結果を表 2 に示す。PFOA および PFOS とともに全ての添加濃度において、回収率の平均値は 96.7-102%であった。これらの結果から、実態調査のための分析が適正に実施されたと判断された。

表 2 内標準法による添加回収試験結果 ($n = 3$)

	添加濃度 (ng/L)	回収率 (%) (平均値 $\pm$ SD)
PFOA	2.5	102.0 $\pm$ 2.0
	5.0	102.0 $\pm$ 1.0
	12.5	97.5 $\pm$ 1.5
	25.0	99.5 $\pm$ 1.3
PFOS	2.5	96.7 $\pm$ 2.3
	5.0	99.0 $\pm$ 0.0
	12.5	99.8 $\pm$ 3.2
	25.0	99.7 $\pm$ 0.8

5. 分析結果

全 160 試料を分析した結果を表 3 に示す。なお、PFOA、PFOS とともに LOQ は 2.5 ng/L、LOD の最大値は 1.25 ng/L であった。表 3 には LOD 以上となった値を示した。160 試料中、PFOA は 9 試料が LOQ 以上で検出され (3.5~22.5 ng/L)、4 試料が LOD~LOQ の間に検出された (1.0~2.0 ng/L)。PFOS は全試料中から検出されなかった。最も PFOA の検出値の高かった試料 (22.5 ng/L) のクロマトグラムを図 4 に、検出されなかった試料の代表的なクロマトグラムを図 5 に示す。各試料の内標準物質のピークが検出されていることから、本分析結果は妥当であると判断した。

水道水の暫定目標値である 50 ng/L (PFOS と PFOA の合計値として) を超過する試料は認められなかった。一方で、LOQ 以上の値が得られた試料数が少なかったことから、PFAS 濃度に影響を与える因子について検討するのは困難であると判断した。しかしながら、PFOA 濃度が LOQ 以上となった試料が全て日本産であったことから、継続的な調査が求められる。

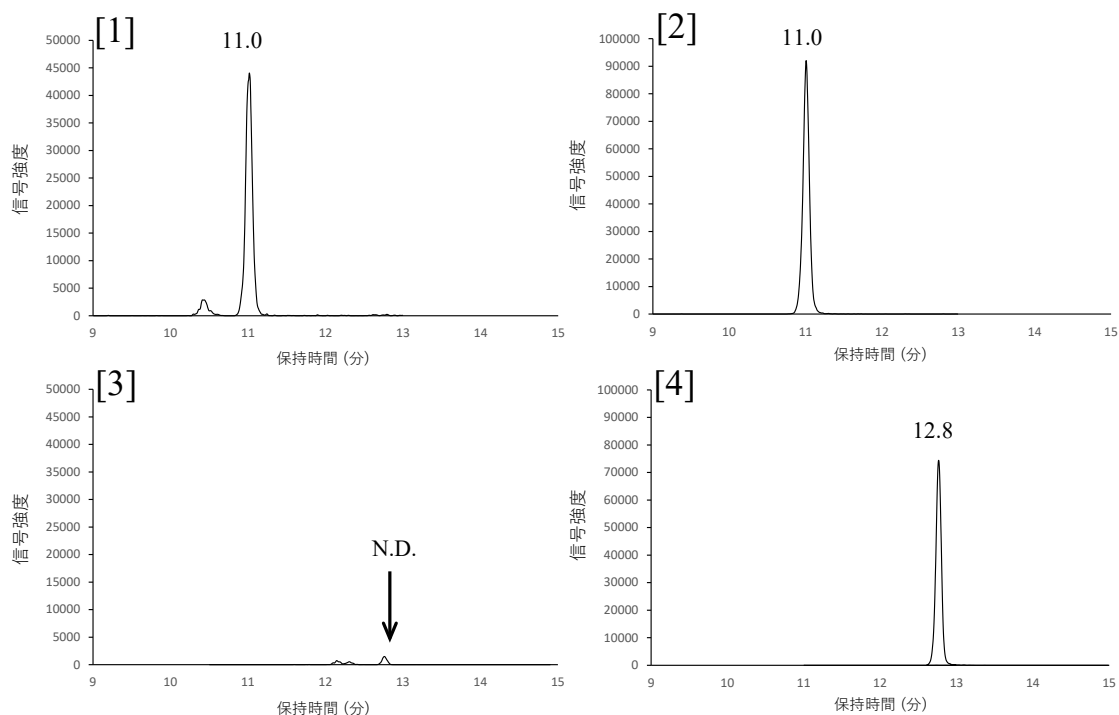


図 4. PFOA 最大検出試料のクロマトグラム

[1] PFOA, [2] $^{13}\text{C}_8$ -PFOA, [3] PFOS, [4] $^{13}\text{C}_8$ -PFOS

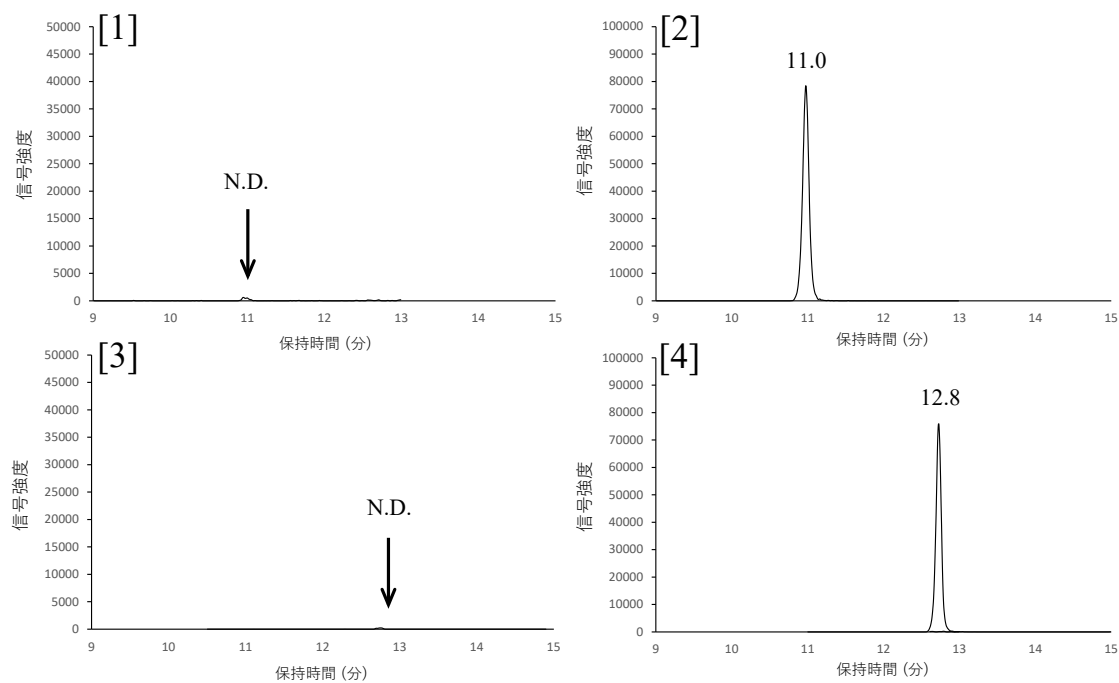


図 5. 不検出試料の代表的なクロマトグラム

[1] PFOA, [2] $^{13}\text{C}_8$ -PFOA, [3] PFOS, [4] $^{13}\text{C}_8$ -PFOS

表 3 ミネラルウォーター中の PFOA 及び PFOS 濃度

試料番号	原産国または 都道府県	PFOA (ng/L)	PFOS (ng/L)
飲料水-1	アメリカ	N.D.	N.D.
飲料水-2	アメリカ	N.D.	N.D.
飲料水-3	アメリカ	N.D.	N.D.
飲料水-4	アメリカ	N.D.	N.D.
飲料水-5	アメリカ	N.D.	N.D.
飲料水-6	イギリス	N.D.	N.D.
飲料水-7	イギリス	N.D.	N.D.
飲料水-8	イギリス	N.D.	N.D.
飲料水-9	イタリア	N.D.	N.D.
飲料水-10	イタリア	N.D.	N.D.
飲料水-11	イタリア	1.5	N.D.
飲料水-12	イタリア	2.0	N.D.
飲料水-13	イタリア	N.D.	N.D.
飲料水-14	イタリア	N.D.	N.D.
飲料水-15	ジョージア国	N.D.	N.D.
飲料水-16	シンガポール	N.D.	N.D.
飲料水-17	スコットランド	N.D.	N.D.
飲料水-18	スペイン	N.D.	N.D.
飲料水-19	スペイン	N.D.	N.D.
飲料水-20	ドイツ	N.D.	N.D.
飲料水-21	ドイツ	N.D.	N.D.
飲料水-22	ニュージーランド	N.D.	N.D.
飲料水-23	ニュージーランド	N.D.	N.D.
飲料水-24	ノルウェー	N.D.	N.D.
飲料水-25	ノルウェー	N.D.	N.D.
飲料水-26	フィジー	N.D.	N.D.
飲料水-27	フィジー	N.D.	N.D.
飲料水-28	フランス	N.D.	N.D.
飲料水-29	フランス	N.D.	N.D.
飲料水-30	フランス	N.D.	N.D.
飲料水-31	フランス	N.D.	N.D.
飲料水-32	フランス	N.D.	N.D.
飲料水-33	マレーシア	N.D.	N.D.
飲料水-34	韓国	N.D.	N.D.
飲料水-35	北海道	N.D.	N.D.
飲料水-36	北海道	N.D.	N.D.
飲料水-37	北海道	N.D.	N.D.
飲料水-38	北海道	7.0	N.D.
飲料水-39	北海道	N.D.	N.D.
飲料水-40	北海道	N.D.	N.D.

試料番号	原産国または 都道府県	PFOA (ng/L)	PFOS (ng/L)
飲料水-41	北海道	N.D.	N.D.
飲料水-42	北海道	N.D.	N.D.
飲料水-43	北海道	N.D.	N.D.
飲料水-44	北海道	N.D.	N.D.
飲料水-45	北海道	N.D.	N.D.
飲料水-46	青森県	N.D.	N.D.
飲料水-47	青森県	N.D.	N.D.
飲料水-48	青森県	N.D.	N.D.
飲料水-49	岩手県	N.D.	N.D.
飲料水-50	岩手県	N.D.	N.D.
飲料水-51	宮城県	N.D.	N.D.
飲料水-52	宮城県	N.D.	N.D.
飲料水-53	秋田県	9.5	N.D.
飲料水-54	山形県	N.D.	N.D.
飲料水-55	山形県	N.D.	N.D.
飲料水-56	山形県	N.D.	N.D.
飲料水-57	山形県	N.D.	N.D.
飲料水-58	山形県	N.D.	N.D.
飲料水-59	山形県	N.D.	N.D.
飲料水-60	福島県	N.D.	N.D.
飲料水-61	福島県	N.D.	N.D.
飲料水-62	福島県	1.0	N.D.
飲料水-63	栃木県	N.D.	N.D.
飲料水-64	群馬県	N.D.	N.D.
飲料水-65	群馬県	N.D.	N.D.
飲料水-66	群馬県	N.D.	N.D.
飲料水-67	群馬県	N.D.	N.D.
飲料水-68	埼玉県	N.D.	N.D.
飲料水-69	埼玉県	N.D.	N.D.
飲料水-70	神奈川県	N.D.	N.D.
飲料水-71	新潟県	N.D.	N.D.
飲料水-72	新潟県	N.D.	N.D.
飲料水-73	新潟県	3.5	N.D.
飲料水-74	富山県	N.D.	N.D.
飲料水-75	富山県	N.D.	N.D.
飲料水-76	富山県	N.D.	N.D.
飲料水-77	富山県	N.D.	N.D.
飲料水-78	福井県	N.D.	N.D.
飲料水-79	福井県	N.D.	N.D.
飲料水-80	山梨県	N.D.	N.D.

表 3 続き

	試料番号	原産国または 都道府県	PFOA (ng/L)	PFOS (ng/L)	試料番号	原産国または 都道府県	PFOA (ng/L)	PFOS (ng/L)
国産	飲料水-81	山梨県	N.D.	N.D.	飲料水-121	島根県	N.D.	N.D.
	飲料水-82	山梨県	N.D.	N.D.	飲料水-122	島根県	N.D.	N.D.
	飲料水-83	山梨県	N.D.	N.D.	飲料水-123	島根県	N.D.	N.D.
	飲料水-84	山梨県	N.D.	N.D.	飲料水-124	岡山県	N.D.	N.D.
	飲料水-85	山梨県	N.D.	N.D.	飲料水-125	広島県	N.D.	N.D.
	飲料水-86	山梨県	N.D.	N.D.	飲料水-126	山口県	N.D.	N.D.
	飲料水-87	山梨県	N.D.	N.D.	飲料水-127	徳島県	N.D.	N.D.
	飲料水-88	山梨県	N.D.	N.D.	飲料水-128	香川県	N.D.	N.D.
	飲料水-89	長野県	N.D.	N.D.	飲料水-129	香川県	11.5	N.D.
	飲料水-90	長野県	N.D.	N.D.	飲料水-130	高知県	N.D.	N.D.
	飲料水-91	長野県	N.D.	N.D.	飲料水-131	高知県	N.D.	N.D.
	飲料水-92	岐阜県	N.D.	N.D.	飲料水-132	高知県	N.D.	N.D.
	飲料水-93	岐阜県	N.D.	N.D.	飲料水-133	熊本県	N.D.	N.D.
	飲料水-94	岐阜県	N.D.	N.D.	飲料水-134	大分県	N.D.	N.D.
	飲料水-95	岐阜県	N.D.	N.D.	飲料水-135	大分県	N.D.	N.D.
	飲料水-96	岐阜県	6.5	N.D.	飲料水-136	大分県	N.D.	N.D.
	飲料水-97	岐阜県	N.D.	N.D.	飲料水-137	大分県	N.D.	N.D.
	飲料水-98	岐阜県	N.D.	N.D.	飲料水-138	大分県	N.D.	N.D.
	飲料水-99	岐阜県	N.D.	N.D.	飲料水-139	大分県	N.D.	N.D.
	飲料水-100	静岡県	N.D.	N.D.	飲料水-140	宮崎県	N.D.	N.D.
	飲料水-101	静岡県	N.D.	N.D.	飲料水-141	宮崎県	N.D.	N.D.
	飲料水-102	静岡県	N.D.	N.D.	飲料水-142	宮崎県	N.D.	N.D.
	飲料水-103	静岡県	N.D.	N.D.	飲料水-143	宮崎県	N.D.	N.D.
	飲料水-104	愛知県	N.D.	N.D.	飲料水-144	宮崎県	N.D.	N.D.
	飲料水-105	三重県	N.D.	N.D.	飲料水-145	宮崎県	N.D.	N.D.
	飲料水-106	滋賀県	8.5	N.D.	飲料水-146	鹿児島県	N.D.	N.D.
	飲料水-107	滋賀県	4.5	N.D.	飲料水-147	鹿児島県	N.D.	N.D.
	飲料水-108	兵庫県	N.D.	N.D.	飲料水-148	鹿児島県	N.D.	N.D.
	飲料水-109	兵庫県	N.D.	N.D.	飲料水-149	鹿児島県	N.D.	N.D.
	飲料水-110	奈良県	N.D.	N.D.	飲料水-150	鹿児島県	N.D.	N.D.
	飲料水-111	奈良県	N.D.	N.D.	飲料水-151	鹿児島県	N.D.	N.D.
	飲料水-112	和歌山県	N.D.	N.D.	飲料水-152	鹿児島県	N.D.	N.D.
	飲料水-113	和歌山県	N.D.	N.D.	飲料水-153	鹿児島県	N.D.	N.D.
	飲料水-114	和歌山県	4.5	N.D.	飲料水-154	鹿児島県	N.D.	N.D.
	飲料水-115	和歌山県	22.5	N.D.	飲料水-155	鹿児島県	2.0	N.D.
	飲料水-116	鳥取県	N.D.	N.D.	飲料水-156	鹿児島県	N.D.	N.D.
	飲料水-117	鳥取県	N.D.	N.D.	飲料水-157	沖縄県	N.D.	N.D.
	飲料水-118	鳥取県	N.D.	N.D.	飲料水-158	沖縄県	N.D.	N.D.
	飲料水-119	鳥取県	N.D.	N.D.	飲料水-159	沖縄県	N.D.	N.D.
	飲料水-120	鳥取県	N.D.	N.D.	飲料水-160	沖縄県	N.D.	N.D.

令和四年度

食品・添加物等規格基準に関する試験検査実施経費報告書

ミネラルウォーター類中の化学物質濃度の実態調査に係る

試験検査報告

国立医薬品食品衛生研究所 食品部

高橋 未来

鈴木 美成

堤 智昭

1. 目的

清涼飲料水（ミネラルウォーター類）の規格基準について、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）及び平成 26 年 12 月 22 日付け食安発 1222 第 1 号「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」により見直しがなされ、国際規格や水道の水質基準等を踏まえつつ成分規格の見直しを行ってきたところである。パーフルオロアルキルおよびポリフルオロアルキル物質（PFAS: Per- and polyfluoroalkyl substances）は、ペルフルオロオクタン酸（PFOA、図 1）、ペルフルオロオクタンスルホン酸（PFOS、図 2）及び他の多くの化学物質を含む人工化学物質群である。PFAS は、1940 年以降、米国をはじめ世界中のさまざまな産業で製造・使用されてきた。PFOA 及び PFOS は、これらの化学物質の中で最も広く生産され、研究されている。どちらの化学物質も環境中および人体内で非常に難分解性であり、分解されず、時間の経過とともに蓄積する可能性がある。PFAS へのばく露がヒトの健康に有害な影響をもたらす可能性が示されてきた。

このような背景を受け、近年、海外において飲料水中の PFAS 濃度について目標値が設定されるなどの動きがあり、新たな知見が蓄積しつつあるところ、我が国においても令和 2 年 3 月に PFOA 及び PFOS について、暫定的な水道の水質管理目標値が 50 ng/L（PFOS と PFOA の合計）と設定された。このことから、ミネラルウォーター類についても、規格基準の設定等が必要か否か検討するため、市場に流通する製品に含まれる当該物質の含有量調査を実施することとした。

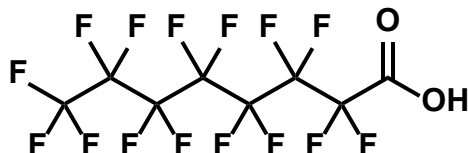


図 1 PFOA の構造式及び物性

分子式: $C_8HF_{15}O_2$

分子量: 414.07

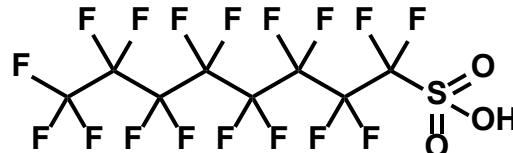


図 2 PFOS の構造式及び物性

分子式: $C_8HF_{17}O_3S$

分子量: 500.13

2. 分析対象食品

市場流通するミネラルウォーター類をインターネットで購入した。海外産と日本産の内訳は、日本産は 78 試料、海外産は 20 試料であった。

3. 試薬・装置

3.1. 標準品

- ・ PFOA 及び PFOS 混合標準原液: PFAC-MXC
(純度 > 98%、WELLINGTON LABORATORIES 製)
- ・ $^{13}C_8$ -PFOA 及び $^{13}C_8$ -PFOS 混合標準液: PFOS/PFOA/PFHxS LABELED STD MIXTURE
(純度 99%、CIL 製)

3.2. 試薬

- ・ メタノール-Plus- (LC/MS 用、関東化学製)
- ・ 1 mol/L 酢酸アンモニウム溶液 (高速液体クロマトグラフィー用、関東化学製)
- ・ ギ酸 (LC/MS 用、99.5+%, 富士フイルム和光純薬製)
- ・ アセトニトリル-Plus- (LC/MS 用、関東化学製)
- ・ アンモニア水 (高速液体クロマトグラフィー用、25%、メルク製)
- ・ 蒸留水-Plus- (LC/MS 用、関東化学製)

3.3. 装置等

- ・ 固相抽出用吸引マニホールド: イナートセップ吸引マニホールド (ジーエルサイエンス製)
- ・ 窒素吹付濃縮装置: EB-303A (アズワン製)
- ・ 固相抽出カラム: Presep PFC- II (60 mg/3 mL、富士フイルム和光純薬製)

液体クロマトグラフ質量分析計 (LC-MS/MS) :

装置	型式	メーカー
LC 装置	Acquity UPLC I-Class	Waters 製
MS 装置	Xevo TQD	Waters 製
データ処理	MassLynx V.4.1	Waters 製

4. PFOA 及び PFOS 分析法の確立及び妥当性評価

4.1. 測定条件

LC-MS/MS を用いた PFOA 及び PFOS の測定条件を検討し、下記の通りとした。

LC 条件

カラム	・InertSustain C18 HP (内径 2.1 mm、長さ 100 mm、粒子径 3 μ m、ジーエルサイエンス製) ・Delay column for PFAS (内径 3.0 mm、長さ 30 mm、ジーエルサイエンス製)			
移動相流速 (mL/min)	0.3			
注入量 (μ L)	5			
カラム温度 ($^{\circ}$ C)	40			
移動相	A 液: 2.5 mmol/L 酢酸アンモニウム水 B 液: アセトニトリル			
グラジエント条件		時間 (min)	A 液 (%)	B 液 (%)
		0.0	85	15

		1.0	85	15	
		14	5	95	
		16	5	95	
		16.1	85	15	
		20	85	15	

MS 条件

測定モード	選択反応モニタリング (SRM)
イオン化モード	ESI (-)
キャピラリー電圧 (kV)	0.5
ソース温度 (°C)	150
脱溶媒温度 (°C)	400
コーンガス流量 (L/h)	N ₂ , 50
デソルベーションガス流量 (L/h)	N ₂ , 800
コリジョンガスの種類	Ar

SRM 条件

	定量イオン				定性イオン			
	プレカーサー	プロダクト	コーン	コリジョン	プレカーサー	プロダクト	コーン	コリジョン
	イオン (m/z)	イオン (m/z)	電圧 (V)	電圧 (eV)	イオン (m/z)	イオン (m/z)	電圧 (V)	電圧 (eV)
PFOA	413	369	20	10	413	169	20	15
¹³ C ₈ -PFOA	421	376	20	10	-	-	-	-
PFOS	499	80	65	50	499	99	65	60
¹³ C ₈ -PFOS	507	80	65	50	-	-	-	-

4.2 測定条件の変更

昨年度の測定条件を参考にして、PFAS をより高感度かつ安定して測定できる条件を検討した。

4.2.1. 測定カラム

PFAS 混合標準品を継続的に測定した結果、ODS カラム (TSKgel ODS-100V) の劣化によると考えられるピーク形状の悪化が認められた。そこで、同様の ODS カラムである InertSustain C18 HP に変更したところ、安定的に良好なピーク形状が得られたため変更した。

4.2.2. キャピラリー電圧

PFOA 及び PFOS 測定感度を向上させるため、MS 装置のキャピラリー電圧 (0.5～2.0 kV) を検討した。その結果、キャピラリー電圧が低くなるほどピーク強度が増加した (図 3)。そのため、最も感度良好であった 0.5 kV に変更した。

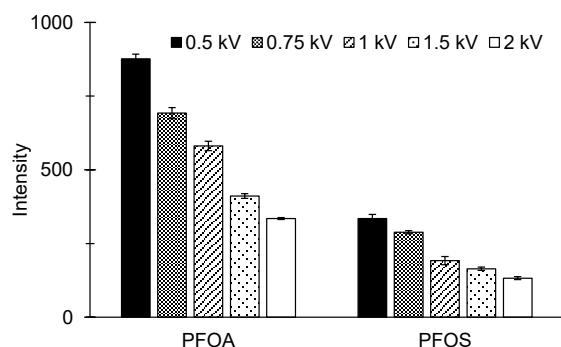


図 3 キャピラリー電圧 (0.5～2.0 kV) に対する PFOA 及び PFOS のピーク強度の変化

4.2.3. 移動相における酢酸アンモニウム濃度

酢酸アンモニウムは有機溶媒に溶けにくいいため、過量な使用は測定装置やカラムに悪影響を与える恐れがある。前述の 4.2.1 で記載したように、カラムの負担を軽減する目的として、移動相中の酢酸アンモニウム濃度 (2.5～10 mmol/L) を検討した。その結果、いずれの濃度においても、PFOA 及び PFOS のピーク強度は殆ど変化がなかった (図 4)。さらに、それぞれのピークのシンメトリー係数を求めると、酢酸アンモニウム濃度が低いほど、1.0 に近い値を示す結果となった (表 1)。以上より、移動相 A 中の酢酸アンモニウム濃度は 2.5 mmol/L とした。

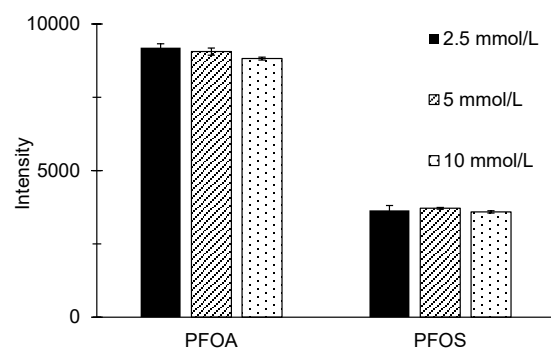


図 4 酢酸アンモニウム濃度における PFOA 及び PFOS のピーク強度の変化

表 1 酢酸アンモニウム濃度における PFOA 及び PFOS のシンメトリー係数

測定対象	2.5 mmol/L	5 mmol/L	10 mmol/L
PFOA	1.0	1.1	1.2
PFOS	1.0	1.2	1.2

上記の条件を用いて得られた PFOA 及び PFOS の SRM クロマトグラムを図 5 に示す。さらに、定量限界 (LOQ) の算出は、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」(以下、妥当性評価ガイドライン) に基づき、 $S/N \geq 10$ に相当する濃度である 0.5 ng/mL を定量限界とした。

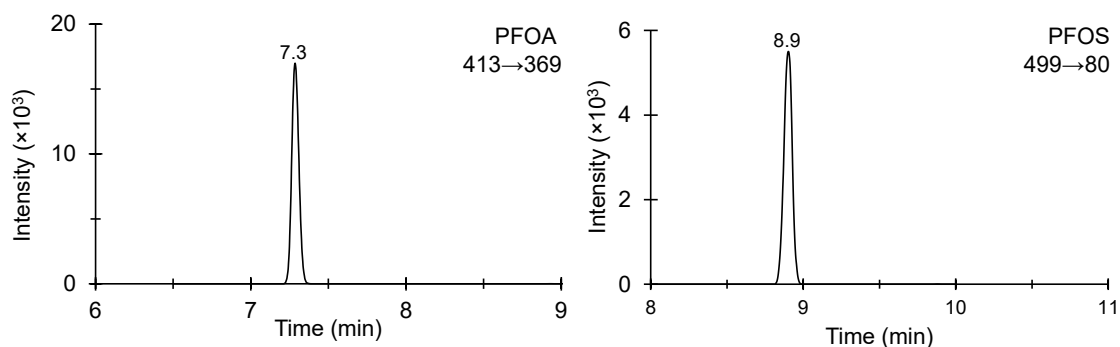


図 5 PFOA 及び PFOS 標準溶液 (1.0 ng/mL) の SRM クロマトグラム (左:PFOA、右:PFOS)

4.3. 試料溶液の調製方法

4.3.1. Presep PFC-II ミニカラムを用いた精製及び濃縮

固相抽出カラムを 0.1% (v/v) アンモニウム含有メタノール 10 mL 、メタノール 5 mL と 0.1% (v/v) ギ酸含有 30% (v/v) メタノール 5 mL でコンディショニングした。さらに、試料 100 mL 、 $^{13}\text{C}_8$ -PFOA 及び $^{13}\text{C}_8$ -PFOS 混合標準液 (内標準物質、I.S.) 0.5 mL 、メタノール 45 mL 及びギ酸 0.1 mL を添加して調製した溶液を通液した。通液後、 30% (v/v) メタノール 5 mL でカラムを洗浄し、マニホールドの栓を全開にしてカラムを乾燥させた。その後、 0.1% (v/v) アンモニウム含有メタノール 5 mL を通して溶出し、ポリプロピレン製の試験管で回収した。この溶出液を窒素吹付装置で濃縮乾固し、 90% (v/v) メタノール $500 \mu\text{L}$ で再溶解した。再溶解した溶液を LC-MS/MS 測定の試験溶液とした。

[分析法フローチャート]

試料 100 mL

↓ $^{13}\text{C}_8$ -PFOA 及び $^{13}\text{C}_8$ -PFOS 混合標準液 (内標準物質、I.S.) 0.5 mL

↓ メタノール 45 mL

↓ ギ酸 0.1 mL

Presep PFC- II (60 mg/3 mL)

↓ 0.1% (v/v) アンモニウム含有メタノール溶液 10 mL、メタノール 5 mL、

↓ 0.1% (v/v) ギ酸含有 30 vol% メタノール溶液 5 mL でコンディショニング

↓ 試料注入

↓ 30% (v/v) メタノール溶液 5 mL で洗浄

↓ 乾燥 (10 min)

↓ 0.1% (v/v) アンモニウム含有メタノール溶液 5 mL で溶出

濃縮乾固

↓ 90% (v/v) メタノール溶液 500 μL で再溶解

試験溶液

↓

LC-MS/MS (注入量: 5 μL)

4.4. 前処理条件の変更

4.4.1. 試料に添加するギ酸量

これまでミネラルウォーター類試料に添加した後のギ酸濃度を 1.0% (v/v) としていた。しかしながら、実験由来のコンタミネーション対策を考慮した際に、前処理で使用する試薬量を極力減らすことが好ましい。ゆえに、最適なギ酸濃度を検討した結果、0.1% (v/v) においても PFOA 及び PFOS を固相カートリッジに十分に保持できることを確認した (図 6)。

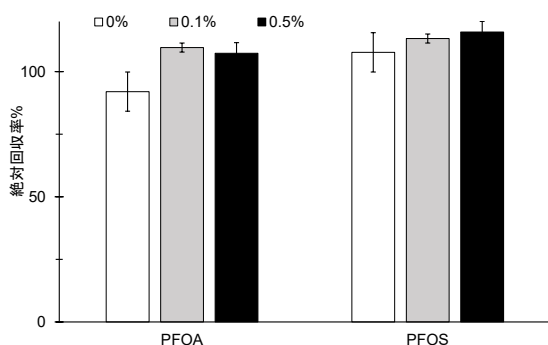


図 6 ミネラルウォーター類試料に添加したギ酸濃度に対する PFOA 及び PFOS の絶対回収率の差異

4.4.2. 固相抽出における溶出溶媒

溶出溶媒について、前年度はアセトニトリルを使用していたが、ISO 法ではメタノールを採用している。そこで、それぞれの溶媒を用いて比較した結果、メタノールを用いた方が良好な回収率であり (図 7 の左)、その溶出量が多いほど回収率も増加する傾向が認められた (図 7 の右)。この結果から、溶出溶媒を 0.1% (v/v) アンモニウム含有メタノール 5 mL に変更した。

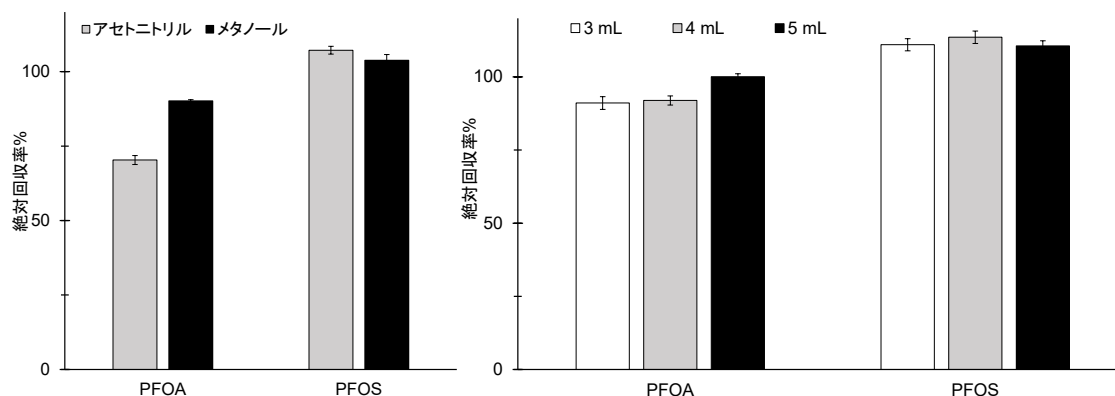


図 7 固相抽出にて使用する有機溶媒系に対する PFOA 及び PFOS の絶対回収率の差異
(左:有機溶媒の比較、右:溶出液量の比較)

4.4.3. 再溶解液の組成

乾固させた試料溶液を十分に再溶解できる溶媒について確認した。再溶解液のメタノールの比率を検討した結果、最も回収率が高かった割合は 90% (v/v) メタノール溶液であった (図 8)。なお、本測定条件では移動相にアセトニトリルを用いているが、再溶解液の組成は PFOA 及び PFOS のピーク形状に影響はなかったため、問題ないと考えられた (上記の図 5)。

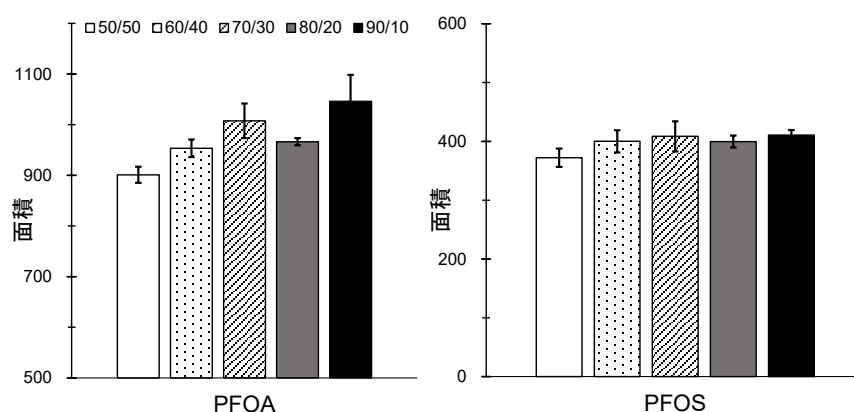


図 8 再溶解にて使用する有機溶媒の組成に対する PFOA 及び PFOS のピーク面積の差異
(左:PFOA、右:PFOS)

4.5. 水試料を用いた妥当性評価

上記の検討にて確立した分析法について、妥当性評価を行った（2 併行 5 日間）。PFOA 及び PFOS の添加用標準溶液をメタノールで希釈し、添加試料中の濃度を 5 ng/L 及び 50 ng/L とした。検量線用標準溶液は、PFOA 及び PFOS 標準溶液 100 ng/mL を 90% (v/v) メタノール溶液で希釈し、それぞれ内標準物質 50 μ L 添加することにより調製した。最終的な検量点は、LOQ である 0.5 ng/mL から 15 ng/mL までとした。また、内標準物質の濃度は 5 ng/mL とした。各濃度に調製した検量線用標準溶液 5 μ L を LC-MS/MS に注入して、内標準物質に対するピーク面積比を用いて検量線を作成し、内標準法で定量した（図 9）。得られた測定値を濃縮倍率 200 倍より試料当たりの定量値を算出した。なお、試料中の定量限界は 2.5 ng/L であった。

妥当性評価の結果、いずれの PFOA 及び PFOS 濃度においても、「Guidance Document on Analytical Parameters for the Determination of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in Food and Feed」に示されているモニタリング目的の目標値（真度 $\pm$ 35%、室内精度 $<$ 25%）を満たした（表 2～3）。さらに、図 10～11 に妥当性評価における PFOA 及び PFOS の SRM クロマトグラムを示したが、ブランク試料において、これらの定量を妨害するピークは確認されなかった。

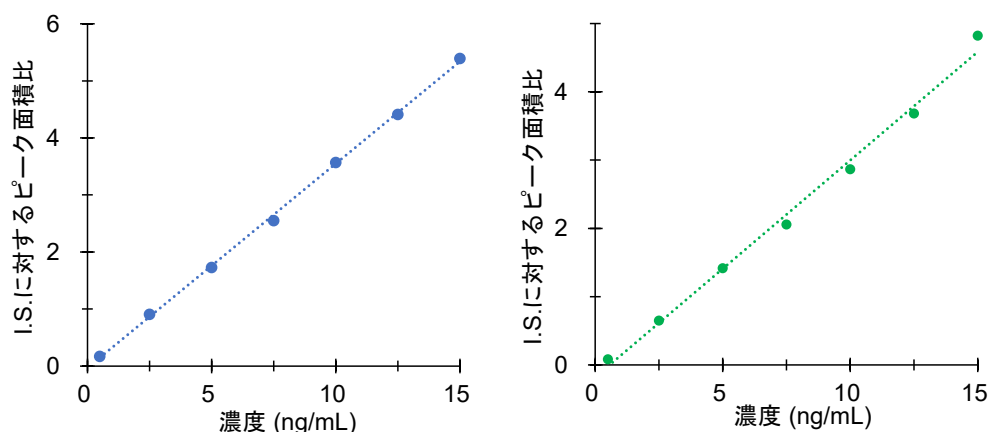


図 9 内標準法による検量線（左:PFOA、右:PFOS）

表 2 水試料を用いた PFOA の妥当性評価（左:内標準法、右:外部標準法）

内標準法				外部標準法			
添加濃度 (ng/L)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	添加濃度 (ng/L)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
5	99.4	2.8	2.9	5	97.5	3.6	3.6
50	98.4	1.3	2.6	50	93.9	4.9	8.6

表 3 水試料を用いた PFOS の妥当性評価（左:内標準法、右:外部標準法）

内標準法				外部標準法			
添加濃度 (ng/L)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	添加濃度 (ng/L)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
5	99.0	5.6	7.0	5	105.2	6.3	6.3
50	99.9	0.7	1.0	50	102.3	3.2	3.6

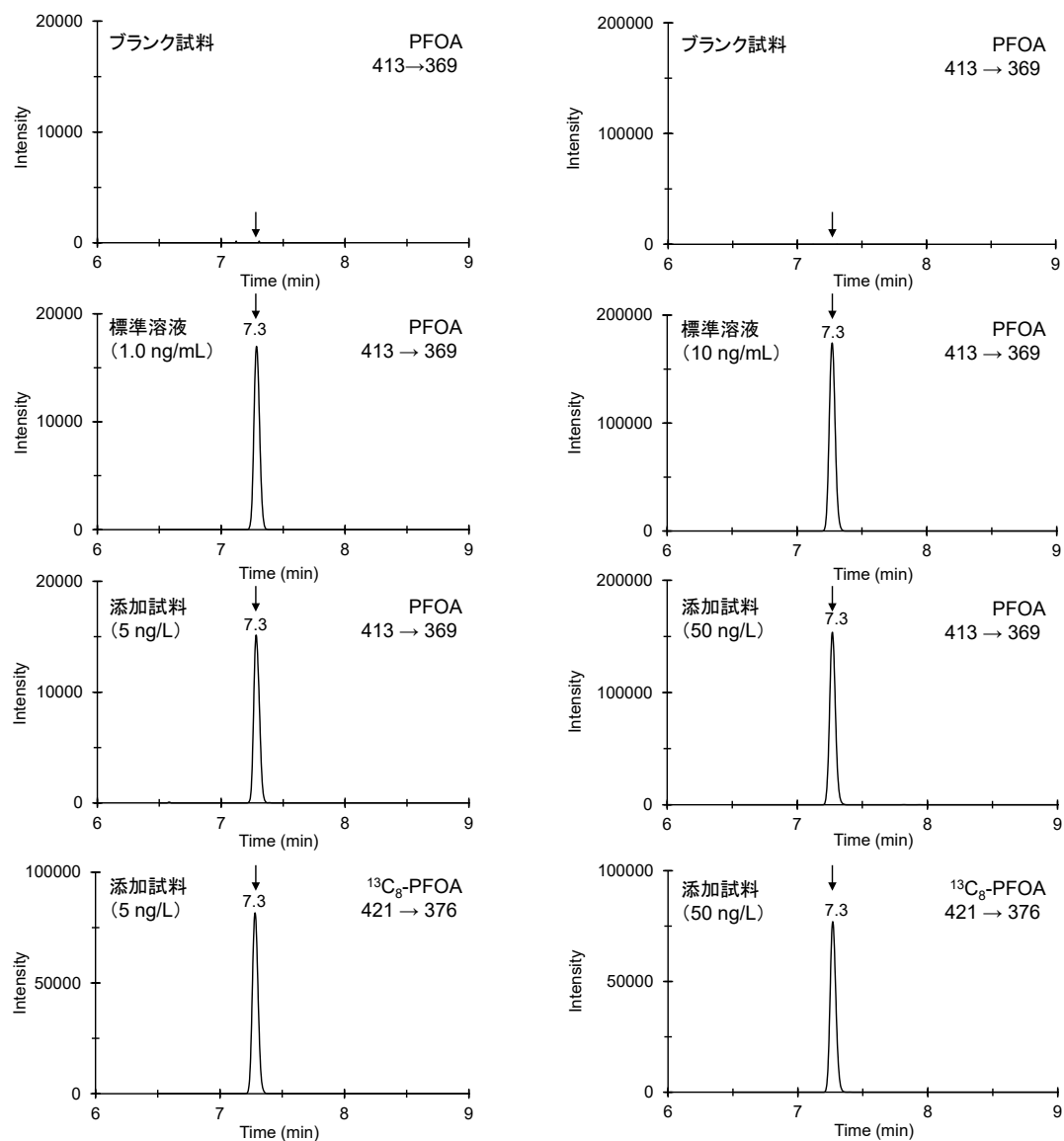


図 10 水試料を用いた妥当性評価における PFOA の SRM クロマトグラム
(左: 添加濃度 5 ng/L、右: 添加濃度 50 ng/L)

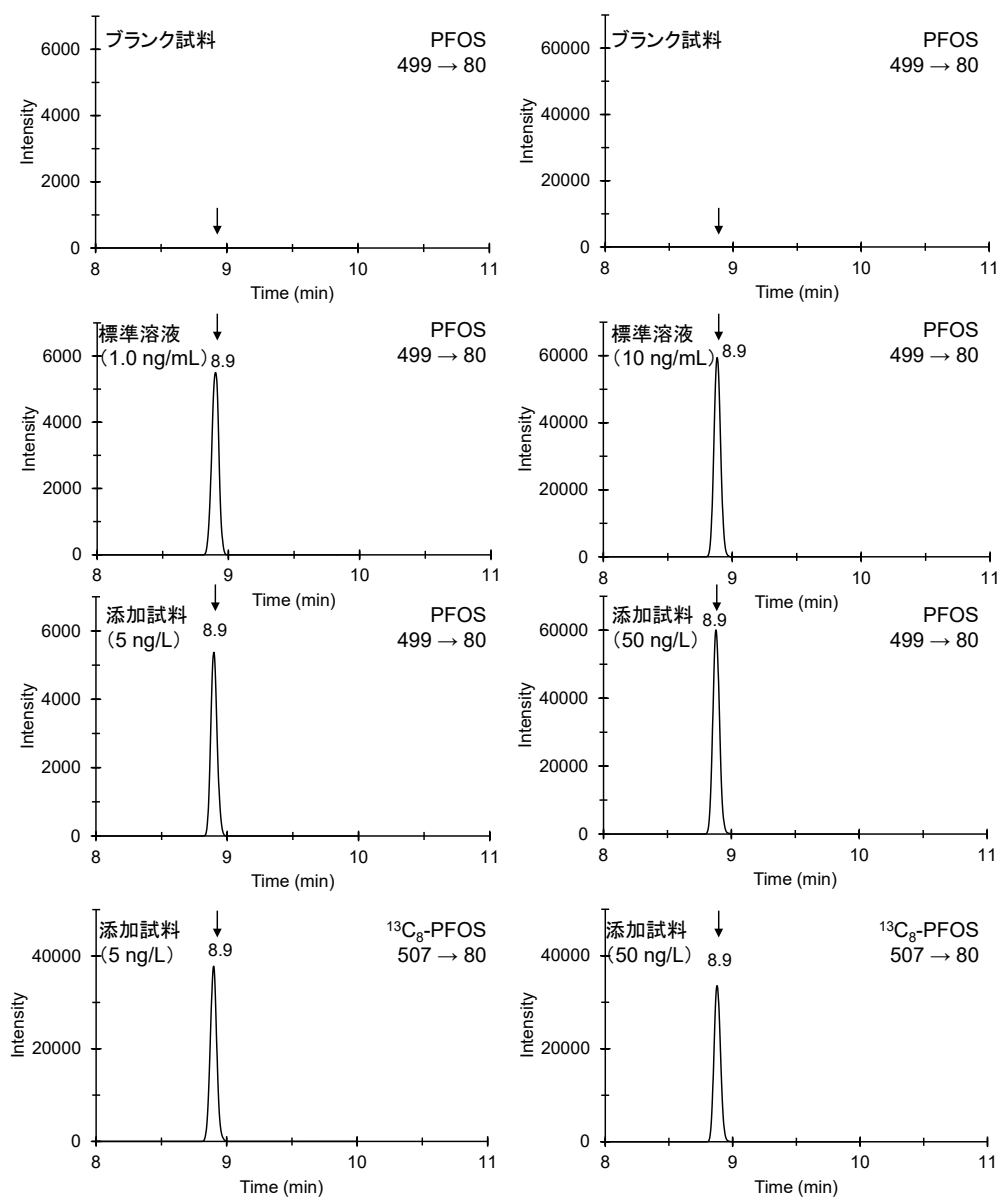


図 11 水試料を用いた妥当性評価における PFOS の SRM クロマトグラム
(左: 添加濃度 5 ng/L、右: 添加濃度 50 ng/L)

5. ミネラルウォーター類における PFOA 及び PFOS の含有量調査

国内において、ミネラルウォーター類は清涼飲料水に属しており、さらにナチュラルウォーター、ナチュラルミネラルウォーター、ミネラルウォーター、及びボトルドウォーター（飲用水）に分類される。それらの特徴を表 4 にまとめた。本調査では、国内で入手可能なミネラルウォーター類 98 試料を入手し、室温暗所にて保管し、開封した試料は冷蔵暗所にて保管した。それらの内訳を図 12 及び表 5 に示した。

表 4 ミネラルウォーター類の分類（農林水産省）

品名	原水	処理方法
ナチュラルウォーター	特定の水源から採水された地下水を原水としたもの	沈殿、ろ過、加熱殺菌のみ
ナチュラルミネラルウォーター	上記のうち鉱化された地下水を原水としたもの	
ミネラルウォーター	ナチュラルミネラルウォーターを原水とし、品質を安定させる目的等のために処理されたもの	沈殿、ろ過、加熱殺菌 ナチュラルミネラルウォーターの混合 ミネラルの調整 オゾン殺菌 紫外線殺菌 曝気
ボトルドウォーター（飲用水）	上記以外の飲用できる水（水道水、蒸留水、河川の表流水などで飲用に適しているもの）	特に規定されていない

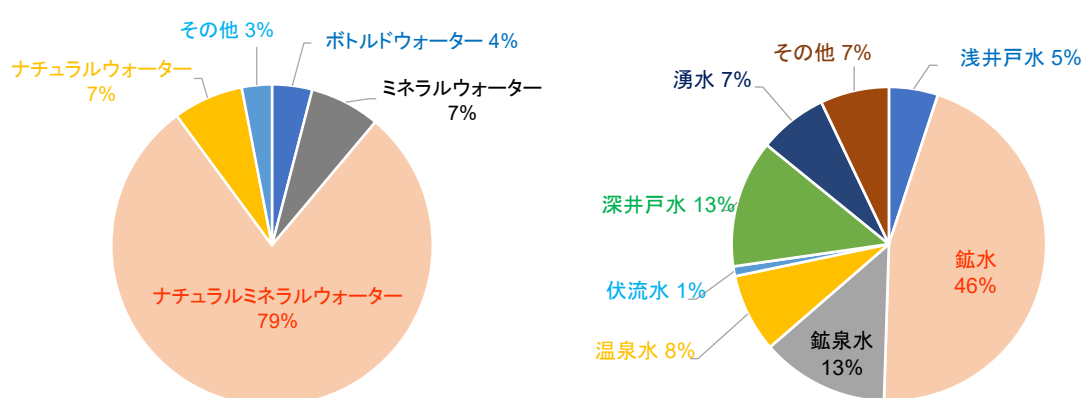


図 12 入手したミネラルウォーター類試料の内訳（左：品名、右：原水の種類）

表 5 測定対象のミネラルウォーター類試料の産地 (左:原産国名、右:国内の採水地)

原産国	試料数
日本	78
韓国	1
マレーシア	1
カナダ	1
米国	1
ノルウェー	1
フランス	3
イタリア	7
スペイン	2
ドイツ	1
ルーマニア	1
ニュージーランド	1
合計	98

国内の採水地	試料数
北海道	5
岩手県	1
宮城県	2
秋田県	2
福島県	3
栃木県	2
群馬県	1
千葉県	1
神奈川県	1
新潟県	2
富山県	7
山梨県	6
長野県	7
静岡県	1
石川県	1
福井県	1
岐阜県	7
愛知県	1
三重県	3
滋賀県	2
兵庫県	1
和歌山県	2
島根県	2
山口県	1
香川県	1
高知県	1
佐賀県	2
熊本県	3
大分県	1
宮崎県	3
鹿児島県	5
合計	78

これらミネラルウォーター類について、上記の分析法に従い試験溶液を調製し、PFOA、PFOS 及び合算値 (PFOA+PFOS) の含有量を調査した結果を表 6 及び表 7 に示す。なお、PFOA 及び PFOS の定量について、直鎖のみの面積値を用いて求めた。

表 6 海外産ミネラルウォーター類試料における PFOA、PFOS 及び合算値の含有量

番号	原産国	PFOA (ng/L)	PFOS (ng/L)	PFOA+PFOS (ng/L)
海外産-01	韓国	<LOQ	<LOQ	-
海外産-02	マレーシア	<LOQ	<LOQ	-
海外産-03	カナダ	<LOQ	<LOQ	-
海外産-04	米国	<LOQ	<LOQ	-
海外産-05	ノルウェー	<LOQ	<LOQ	-
海外産-06	フランス	<LOQ	<LOQ	-
海外産-07	フランス	<LOQ	<LOQ	-
海外産-08	フランス	<LOQ	<LOQ	-
海外産-09	イタリア	<LOQ	<LOQ	-
海外産-10	イタリア	<LOQ	<LOQ	-
海外産-11	イタリア	<LOQ	<LOQ	-
海外産-12	イタリア	<LOQ	<LOQ	-
海外産-13	イタリア	<LOQ	<LOQ	-
海外産-14	イタリア	<LOQ	<LOQ	-
海外産-15	イタリア	<LOQ	<LOQ	-
海外産-16	スペイン	<LOQ	<LOQ	-
海外産-17	スペイン	<LOQ	<LOQ	-
海外産-18	ドイツ	<LOQ	<LOQ	-
海外産-19	ルーマニア	<LOQ	<LOQ	-
海外産-20	ニュージーランド	3.1	<LOQ	3.1

表 7 国産ミネラルウォーター類試料における PFOA、PFOS 及び合算値の含有量

番号	採水地	PFOA (ng/L)	PFOS (ng/L)	PFOA+PFOS (ng/L)
国産-01	北海道	3.7	<LOQ	3.7
国産-02	北海道	<LOQ	<LOQ	-
国産-03	北海道	<LOQ	<LOQ	-
国産-04	北海道	<LOQ	<LOQ	-
国産-05	北海道	<LOQ	<LOQ	-
国産-06	岩手県	<LOQ	<LOQ	-
国産-07	宮城県	<LOQ	<LOQ	-
国産-08	宮城県	<LOQ	<LOQ	-
国産-09	秋田県	<LOQ	<LOQ	-
国産-10	秋田県	3.7	5.7	9.4
国産-11	福島県	<LOQ	<LOQ	-
国産-12	福島県	<LOQ	<LOQ	-
国産-13	福島県	<LOQ	<LOQ	-
国産-14	栃木県	<LOQ	<LOQ	-
国産-15	栃木県	<LOQ	<LOQ	-
国産-16	群馬県	<LOQ	<LOQ	-
国産-17	千葉県	<LOQ	<LOQ	-
国産-18	神奈川県	<LOQ	<LOQ	-
国産-19	新潟県	<LOQ	<LOQ	-
国産-20	新潟県	<LOQ	<LOQ	-
国産-21	富山県	<LOQ	<LOQ	-
国産-22	富山県	<LOQ	<LOQ	-
国産-23	富山県	<LOQ	<LOQ	-
国産-24	富山県	<LOQ	<LOQ	-
国産-25	富山県	<LOQ	<LOQ	-
国産-26	富山県	<LOQ	<LOQ	-
国産-27	富山県	<LOQ	<LOQ	-
国産-28	山梨県	<LOQ	<LOQ	-
国産-29	山梨県	<LOQ	<LOQ	-
国産-30	山梨県	<LOQ	<LOQ	-
国産-31	山梨県	<LOQ	<LOQ	-
国産-32	山梨県	<LOQ	<LOQ	-
国産-33	山梨県	<LOQ	<LOQ	-
国産-34	長野県	<LOQ	<LOQ	-

表 7 国産ミネラルウォーター類試料における PFOA、PFOS 及び合算値の含有量 (続き)

番号	採水地	PFOA (ng/L)	PFOS (ng/L)	PFOA+PFOS (ng/L)
国産-35	長野県	<LOQ	<LOQ	-
国産-36	長野県	<LOQ	<LOQ	-
国産-37	長野県	<LOQ	<LOQ	-
国産-38	長野県	<LOQ	<LOQ	-
国産-39	長野県	<LOQ	<LOQ	-
国産-40	長野県	<LOQ	<LOQ	-
国産-41	静岡県	<LOQ	<LOQ	-
国産-42	石川県	<LOQ	<LOQ	-
国産-43	福井県	<LOQ	<LOQ	-
国産-44	岐阜県	<LOQ	<LOQ	-
国産-45	岐阜県	<LOQ	<LOQ	-
国産-46	岐阜県	<LOQ	<LOQ	-
国産-47	岐阜県	3.0	<LOQ	3.0
国産-48	岐阜県	<LOQ	<LOQ	-
国産-49	岐阜県	4.6	4.6	9.2
国産-50	岐阜県	<LOQ	<LOQ	-
国産-51	愛知県	<LOQ	<LOQ	-
国産-52	三重県	<LOQ	<LOQ	-
国産-53	三重県	<LOQ	<LOQ	-
国産-54	三重県	<LOQ	<LOQ	-
国産-55	滋賀県	3.2	<LOQ	3.2
国産-56	滋賀県	<LOQ	<LOQ	-
国産-57	兵庫県	11.8	44.3	56.1
国産-58	和歌山県	3.6	<LOQ	3.6
国産-59	和歌山県	<LOQ	<LOQ	-
国産-60	島根県	<LOQ	<LOQ	-
国産-61	島根県	<LOQ	<LOQ	-
国産-62	山口県	<LOQ	<LOQ	-
国産-63	香川県	5.0	<LOQ	5.0
国産-64	高知県	<LOQ	<LOQ	-
国産-65	佐賀県	<LOQ	<LOQ.	-
国産-66	佐賀県	<LOQ	<LOQ.	-
国産-67	熊本県	<LOQ	<LOQ	-

表 7 国産ミネラルウォーター類試料における PFOA、PFOS 及び合算値の含有量 (続き)

番号	採水地	PFOA (ng/L)	PFOS (ng/L)	PFOA+PFOS (ng/L)
国産-68	熊本県	<LOQ	<LOQ	-
国産-69	熊本県	<LOQ	<LOQ	-
国産-70	大分県	<LOQ	<LOQ	-
国産-71	宮崎県	<LOQ	<LOQ	-
国産-72	宮崎県	<LOQ	<LOQ	-
国産-73	宮崎県	<LOQ	<LOQ	-
国産-74	鹿児島県	<LOQ	<LOQ	-
国産-75	鹿児島県	<LOQ	<LOQ	-
国産-76	鹿児島県	<LOQ	<LOQ	-
国産-77	鹿児島県	<LOQ	<LOQ	-
国産-78	鹿児島県	<LOQ	<LOQ	-

得られた PFOA 及び PFOS の含有量及び試料数の分布を表 8 にまとめた。LOQ 以上となった試料の割合は、PFOA では 9.2%、PFOS では 3.1%であり、それらの濃度範囲は、PFOA では 3.0～11.8 ng/L、PFOS では 4.6～44.3 ng/L であった。なお、全試料の中で、国産-57 の PFOA 及び PFOS 合算値 (56.1 ng/L) は、水道管理目標設定項目の目標値 (PFOA 及び PFOS の合算値:50 ng/L) を超える値となった。

表 8 ミネラルウォーター類試料中の PFOA 及び PFOS の含有量と試料数の分布

濃度範囲	PFOA	PFOS
<2.5 ng/L	89 (90.8%)	95 (96.9%)
≥2.5 ng/L	9 (9.2%)	3 (3.1%)

さらに、PFOA 及び PFOS は直鎖だけでなく、分岐鎖も存在していることが報告されている。水道管理目標設定項目では、直鎖の標準溶液を用いて検量線を作成し、試験溶液は直鎖だけでなく分岐鎖の面積値を合算して定量している。そこで、本調査においても PFOA もしくは PFOS の含有量が LOQ 以上であったミネラルウォーター類について、分岐鎖の割合を算出した (表 9)。その結果、殆どのミネラルウォーター類 (9 試料中 8 試料) において分岐鎖の PFOA 及び PFOS が検出された。なお、PFOA 及び PFOS の分岐鎖の割合が最大であったミネラルウォーター類の SRM クロマトグラムを図 13 に示した。

表 9 PFOA あるいは PFOS が検出されたミネラルウォーター類試料における分岐鎖の割合

番号	分岐鎖 / 直鎖の面積比	
	PFOA	PFOS
海外産-20	0.16	A
国産-01	0.81	A
国産-10	0.09	0.37
国産-47	B	A
国産-49	0.03	0.55
国産-55	B	A
国産-57	0.10	0.80
国産-58	0.03	A
国産-63	0.07	A

A：直鎖及び分岐鎖のピークがどちらも不検出であった。

B：直鎖のピークは検出されたが、分岐鎖のピークは不検出であった。

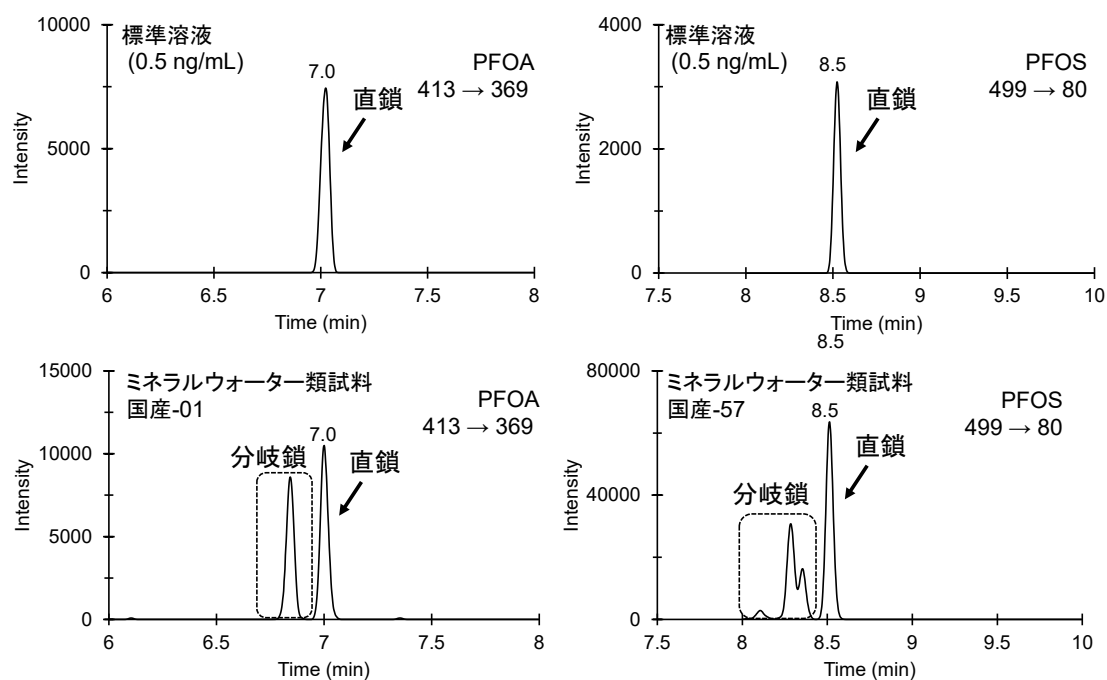


図 13 分岐鎖の割合が最大であったミネラルウォーター類の SRM クロマトグラム
(左：PFOA、右：PFOS)

6. 総括

国内で入手可能なミネラルウォーター類（計 98 試料）中の PFOA 及び PFOS の含有量調査を行った結果、LOQ 以上の含有が認められた試料は PFOA では 9.2% (3.0～11.8 ng/L)、PFOS では 3.1% (4.6～44.3 ng/L) であった。その中で、水道管理目標設定項目の目標値 (PFOA 及び PFOS の和) である 50 ng/L を超える試料が 1 試料あった。そのため、PFOA 及び PFOS に関するミネラルウォーター類の成分規格については、今までの調査結果を踏まえて慎重に検討する必要があると考えられる。今後は、分岐鎖についての議論も必要であると考えられた。