

酸循環式分解／黒鉛炉原子吸光分析法によるペットフード中のヒ素の定量*

田中 智一^{*1}, 林 大就^{*2}

Determination of Arsenic in a Pet Food by Acid Circulation Decomposition / Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry

Tomokazu TANAKA^{*1} and Hironari HAYASHI^{*1} Faculty of Environmental and Information Sciences, Department of Applied Chemistry and Food Science

In the present study, we attempted to determine trace arsenic (As) in a dry-type cat food by using a method combining acid circulation decomposition (ACD) and graphite furnace atomic absorption spectrometry (GF-AAS). Since the decomposition container of an ACD device is a semi-sealed type, the presence or absence of volatilization of As during decomposition was confirmed by an addition recovery experiment. Although there was no volatilization during decomposition, it was suggested that As was lost due to bumping during the drying and ashing stages of the GF-AAS apparatus. Loss could be suppressed by changing the temperature program of GF-AAS and slowly drying and ashing. However, the peak appearance time was different between the sample and the standard solution, and it was difficult to quantify by the usual calibration curve method. Therefore, the standard addition method was applied. The appearance time of the peak top was the same at all concentrations, and it was found that the standard addition method is effective when the signal behavior differs between the sample and the standard solution. The determination was tried several times by the standard addition method, but the concentration of As in the sample was below the lower limit of determination (10 ppb) of GF-AAS. It was found that the sample used in the present study contained almost no As and was below the standard value (15 µg/g) of the Pet Food Safety Law.

Key Words : Pet Food, Arsenic, Atomic Absorption Spectrometry, Graphite Furnace, Acid Circulation Decomposition

1. 緒 言

一般社団法人ペットフード協会では、全国 20～79 歳の男女個人（飼育者および非飼育者）を対象に標本抽出を行い、インターネットで犬・猫（以下、ペットと表記）飼育数の実態調査を行っている⁽¹⁾。この調査によれば、2020 年度におけるペットの飼育数の推計は犬が 849 万頭、猫が 964 万頭であり、約 1,800 万頭のペットが飼育されている。また、2020 年度に新たにペットを飼い始めた新規飼育者によるペットの飼育頭数は、2019 年度に比べて約 15% 増加しており、新型コロナウイルス感染症拡大防止のために在宅が増えたことなどの影響が窺える。

ペットフードの 2015～2019 年度における年間流通量は、国産品・輸入品を合わせて約 60 万 t で、ほぼ横ばいで推移している。一方、同一期間でのペットフードの市場規模はゆるやかな右肩上がりでも推移しており、2019 年度は約 3,200 億円に届こうとしている。ペットの高齢化が進む中、健康志向を謳った高付加価値のペットフードに関心がもたれるようになったことなどが市場規模の右肩上がりにつながっていると推測される。

我が国では、ペットフードの安全性を確保するために、農林水産省と環境省の共管のもと、「愛がん動物用飼料

* 原稿受付 2021 年 4 月 30 日

^{*1} 環境情報学部 環境食品応用化学科

^{*2} 環境情報学部 環境・食品科学科

E-mail: tanaka@fukui-ut.ac.jp

Table 1 Operating conditions of GF-AAS.

| | |
|----------------------------|------------|
| Wavelength | 193.7 nm |
| Lamp current | 18 mA |
| Slit width | 0.7 nm |
| Integration time | 3 s |
| Injection volume of sample | 20 μ L |

の安全性の確保に関する法律（平成 20 年 6 月 18 日法律第 83 号）」（通称：ペットフード安全法）が 2009 年 6 月に施行されている。さらに、「愛玩動物用飼料の成分規格等に関する省令（平成 21 年 4 月 28 日 農林水産省令・環境省令第 1 号，改正 平成 26 年 8 月 20 日 農林水産省令・環境省令第 3 号）」により，ペットフードの製造・販売にかかる基準・規格（成分規格，製造の方法の基準，表示の基準）が定められている。この成分規格の中には，11 種類の化学種が「汚染物質」（環境中に存在する物質であって意図せず愛玩動物用飼料中に含まれるもの）として指定されており，これらの化学種には 3 種類の有害元素（Cd, Pb, As）が含まれている。食品⁽²⁾⁽⁴⁾や食品添加物⁽⁵⁾に含まれる微量元素の定量に原子吸光分析法（AAS）が用いられていることから，先行研究⁽⁶⁾において加圧酸分解法と黒鉛炉原子吸光分析法（GF-AAS）を組み合わせた方法により，ペットフード中の Cd の分析を行った。しかしながら，マッフル炉内の容積の関係で同時に分解できる試料が 2 個に限られており，分解の効率が制限されることが課題であった。そこで，本研究では最大 24 個の試料を同時に分解可能な酸循環式分解装置を用いて，ペットフード中の As の定量を試みた。酸循環式分解装置の分解容器が半密閉式であるため，目的元素の揮散がないことを添加回収実験によって確認するとともに，より信頼性の高い定量結果を目指して標準添加法を適用した。

2. 実 験

2.1 試料調製および測定

酸循環式分解装置（アクタック製，エコプレシステム 24T）専用の 100 mL 高純度フッ素樹脂製分解容器（アクタック製，OD-100）を，①ブランク用，②試料のみ添加用，③As 標準液のみ添加用，④試料および As 標準液添加用の 4 本分用意した。4 本とも卓上型超音波洗浄機（シャープ製，UT-205HS）を用いて超純水で 15 分間洗浄した後，洗浄瓶から超純水を容器に吹きかけて再度洗浄した。文献⁽⁷⁾を参考に，①～④のすべての容器の下部に分解試薬として濃硝酸 15 mL と過酸化水素 5 mL を加え，上部には捕集溶液として 5%硝酸を 6 mL 入れた。②と④の容器下部には，分析試料（ドライタイプキャットフード，下部尿路の健康維持用）約 0.1 g を電子天秤（メトラー・トレド製，AG204）を用いて 0.1 mg の桁まで精秤して加えた。③と④の容器下部には 10 mg/L の As 標準液を 0.1 mL 添加した。その後，上限温度（180 $^{\circ}$ C）と下限温度（140 $^{\circ}$ C）を一定の間隔で繰り返しながら 5 時間分解した。分解終了後の溶液を 50 mL メスフラスコに洗液とともに移して定容し，この溶液の 20 μ L を GF-AAS 装置（パーキンエルマー製，Aanalyst 600）の黒鉛炉内に注入して溶液中の As を定量した。測定に用いた GF-AAS 装置の操作条件を Table 1 に示す。黒鉛炉内には，灰化段階における As の揮散を抑制するため，200 ppm Pd-Mg 化学修飾剤を 5 μ L 添加した。定量結果から回収率を求め，分解時における As の損失の有無について確認した。

2.2 試薬

試料の分解に使用した硝酸および過酸化水素水は，いずれも試薬特級（ナカライテスク製）を用いた。添加用の As 標準液は，原子吸光分析用標準液（ナカライテスク製，1000 ppm）を希釈して調製した。原子吸光分析の灰化段階における As の揮散を抑制するために添加した Pd-Mg 化学修飾剤は，原子吸光分析用（関東化学製，Pd および Mg 各 10000 ppm）を希釈して使用した。超純水は，水道水を超純水製造装置（ザルトリウス・ジャパン製，アリウム 611DI）により精製したものをを用いた。

3. 結果および考察

3.1 GF-AAS による測定

4種類の溶液（ブランク，試料，As 1 μg ，試料 + As 1 μg ）を，Table 2 に示す GF-AAS 装置メーカー推奨の温度プログラムで測定した。その結果を Table 3 に示す。ブランク値が定量下限以下であることから，本実験においては汚染が生じていないといえる。回収率は，As 1 μg の場合で 70%，試料 + As 1 μg の場合は 6%低くなり 64% となった。As 1 μg の場合でも 30%の損失があったことから，GF-AAS 装置の乾燥や灰化の段階で突沸が起きていることが示唆された。Table 2 の温度プログラムで測定した吸光度の時間的変化を Fig. 1 に示す。図中の赤い破線が試料 + As 1 μg のときのバックグラウンド（BG）を示しており，試料添加時に大きな BG 吸収が生じていることがわかる。これは先行研究⁶⁾においても見られた現象であり，残存した有機物によって生成した炭素の煤が光源である中空陰極ランプからの光を遮ったことにより発生したものと考えられた。

3.2 温度プログラムの検討

これらのことから，乾燥や灰化を緩やかにして突沸を抑えるとともに，原子化の際に少量の Ar ガスを流してバックグラウンドを抑制するため，温度プログラムを変更した。変更後の温度プログラムを Table 4 に示す。この

Table 2 Temperature program of GF-AAS.

| Heating step | Temperature/ $^{\circ}\text{C}$ | Ramp time/s | Hold time/s | Ar flow rate/ mL min^{-1} |
|--------------|---------------------------------|-------------|-------------|------------------------------------|
| Drying 1 | 110 | 1 | 30 | 250 |
| Drying 2 | 130 | 15 | 30 | 250 |
| Ashing | 1200 | 10 | 20 | 250 |
| Atomization | 2000 | 0 | 5 | 0 |
| Cleanup | 2450 | 1 | 3 | 250 |

Table 3 Determination result obtained with temperature program shown in Table 2.

| | Blank | Sample | As 1 μg | Sample + As 1 μg |
|----------------------------|-------|--------|--------------------|-----------------------------|
| Detected (μg) | < DL | < DL | 0.70 | 0.64 |
| Recovery (%) | — | — | 70 | 64 |

DL : Determination limit

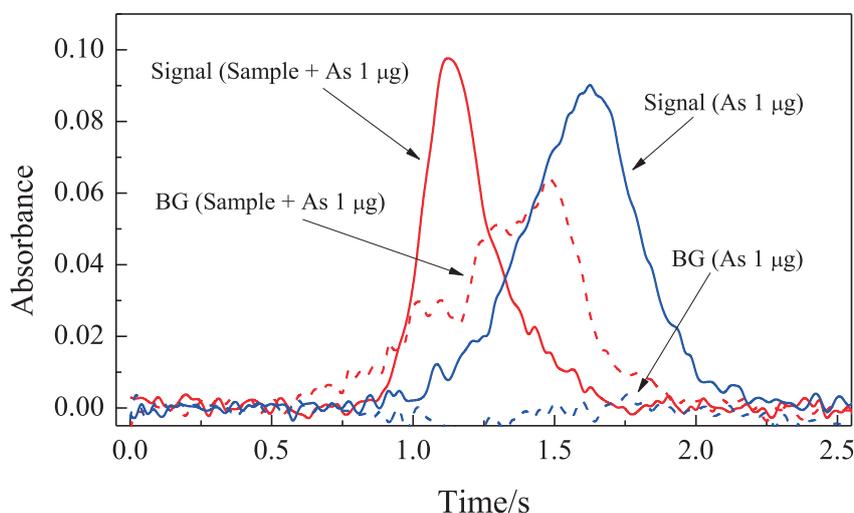


Fig.1 Signal profiles of As and background measured with temperature program shown in Table 2.

温度プログラムで測定した4種類の溶液（ブランク，試料，As 1 μg ，試料 + As 1 μg ）の定量結果を Table 5 に示す。As 1 μg の回収率は 100% となり，突沸や揮散を抑えることができた。一方，試料 + As 1 μg の回収率は 69% となり，温度プログラム変更前に比べて 5% 向上したものの，依然として約 30% の損失が見られた。Fig. 2 に示す吸光度の時間的変化に見られるように，試料 + As 1 μg の BG 吸収は温度プログラム変更前に比べて大きく抑制することができた。しかしながら，試料の有無によってピークの出現時間が大きく異なることがわかった。この原因は必ずしも明らかではないが，有機物の共存や酸の濃度によって原子化の効率が変化するためではないかと推測される。ピークの出現時間が試料と標準溶液とで異なることから，標準溶液のみで検量線を作成しても試料中の As を正確に定量することは困難であると考えられた。

3.3 標準添加法の適用

試料中の As を定量するため，GF-AAS 装置に備わっている標準添加法の適用を試みた。黒鉛炉内に 20 μL の試料溶液を注入した後，0~30 $\mu\text{g/L}$ の範囲で濃度が段階的に変化するように標準溶液と超純水，ならびに

Table 4 Modified temperature program of GF-AAS.

| Heating step | Temperature/ $^{\circ}\text{C}$ | Ramp time/s | Hold time/s | Ar flow rate/ mL min^{-1} |
|--------------|---------------------------------|-------------|-------------|------------------------------------|
| Drying 1 | 90 | 13 | 30 | 250 |
| Drying 2 | 120 | 15 | 30 | 250 |
| Ashing 1 | 270 | 10 | 40 | 250 |
| Ashing 2 | 900 | 10 | 30 | 250 |
| Atomization | 2000 | 0 | 3 | 50 |
| Cleanup | 2450 | 1 | 3 | 250 |

Table 5 Determination result obtained with temperature program shown in Table 4.

| | Blank | Sample | As 1 μg | Sample + As 1 μg |
|----------------------------|-------|--------|--------------------|-----------------------------|
| Detected (μg) | < DL | < DL | 1.04 | 0.69 |
| Recovery (%) | — | — | 104 | 69 |

DL : Determination limit

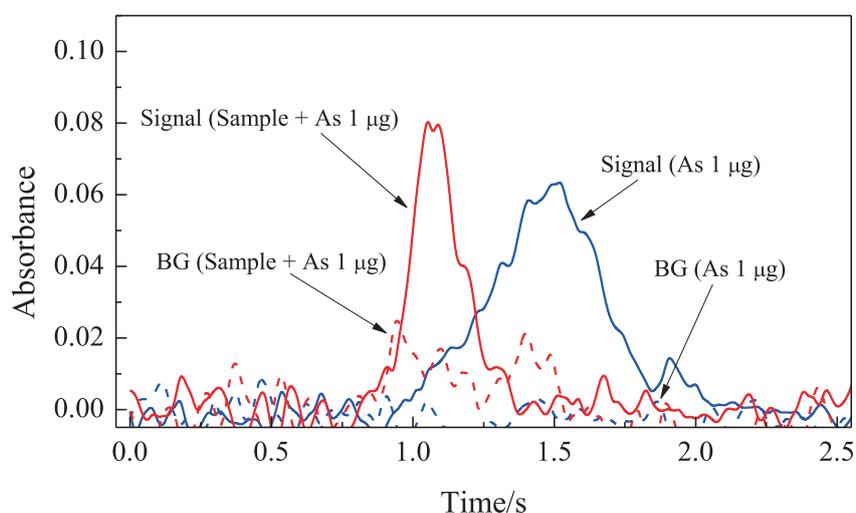


Fig.2 Signal profiles of As and background measured with temperature program shown in Table 4.

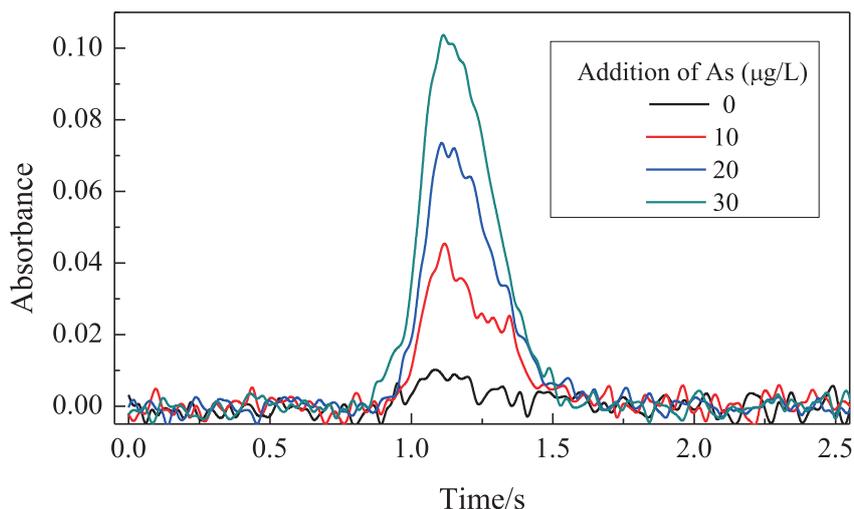


Fig.3 Signal profiles of As obtained with a standard addition method.

200 ppm Pd-Mg 化学修飾剤 5 μL を加えて測定を行った。測定によって得られた吸光度の時間的変化を Fig. 3 に示す。いずれの濃度でもピークトップの出現時間は一致しており、試料と標準溶液とで信号の挙動が異なるときには標準添加法が有効であることがわかった。実際に標準添加法で数回測定を行ったが、試料中の As の濃度はいずれも GF-AAS の定量下限 (10 ppb) 以下になった。このことから、As の正確な濃度は不明であるものの、今回使用した試料に As はほとんど含まれておらず、ペットフード安全法の基準値 (15 $\mu\text{g/g}$) 以下であることがわかった。今後は GF-AAS の感度を考慮し、試料の採取量を増やすことによって、ペットフード中の As の含有率が求められるかどうか検討する必要がある。

4. 結 論

酸循環式分解装置と GF-AAS を組み合わせた方法により、ペットフード中の As の定量を試みた。酸循環式分解装置の分解容器が半密閉式であるため、分解中の As の揮散の有無を添加回収実験により確認した。分解時の揮散はなかったが、GF-AAS 装置の乾燥・灰化の段階における突沸によって As の損失が示唆された。GF-AAS の温度プログラムを変更し、緩やかに乾燥・灰化を行うことで損失を抑制することができた。しかしながら、ピークの出現時間が試料と標準溶液とで異なり、通常の検量線法では定量が困難であったため、標準添加法を適用した。いずれの濃度でもピークトップの出現時間は一致し、試料と標準溶液とで信号の挙動が異なるときには標準添加法が有効であることがわかった。実際に標準添加法で数回測定を行ったが、試料中の As の濃度はいずれも GF-AAS の定量下限 (10 ppb) 以下になった。このことから、今回使用した試料に As はほとんど含まれておらず、ペットフード安全法の基準値 (15 $\mu\text{g/g}$) 以下であることがわかった。

参考文献

- (1) 一般社団法人ペットフード協会, “2020 年 (令和 2 年) 全国犬猫飼育実態調査結果”, 一般社団法人ペットフード協会, <https://petfood.or.jp/topics/img/201223.pdf> (参照日 2021 年 4 月 25 日).
- (2) 三浦和代, 山本和子, 米谷 明, 白崎俊浩, “ゼーマン分裂補正方式原子吸光光度法による食品中セシウムの定量”, 分析化学, Vol. 62, No. 1 (2013), pp. 37-41.
- (3) 片岡洋平, 渡邊敬浩, 林 智子, 手島玲子, 松田りえ子, “清涼飲料水中の鉛, 総ヒ素, カドミウムの一斉定量を目的とした ICP-OES 法, ICP-MS 法, 電気加熱式原子吸光法の開発”, 食品衛生学雑誌, Vol. 56, No. 3 (2015), pp. 88-95.

- (4) 塩野弘二, 志田 (齊藤) 静夏, 今村正隆, 根本 了, 穂山 浩, “水素化物発生原子吸光法による農産物中のヒ素分析法”, 日本食品化学学会誌, Vol. 24, No. 3 (2017), pp. 114-118.
- (5) 伊藤道男, 石黒 聡, 高橋文人, 野村孝一, 杉本敏明, 西村 勉, “ビスマス共沈分離－原子吸光光度法によるグルコン酸銅中の鉛の微量分析”, 食品衛生学雑誌, Vol. 56, No. 3 (2015), pp. 114-117.
- (6) 田中智一, 黒木大介, 根谷昌希, 前田拓海, 松本直也, 松本悠河, 梅田孝男, “加圧酸分解／黒鉛炉原子吸光分析法による愛玩動物用飼料 (ペットフード) 中のカドミウムの定量”, 福井工業大学研究紀要, No. 48 (2018), pp.70-74.
- (7) 太田清久, 金子 聡, 原子吸光分析, (2011), pp. 210-212, 共立出版.

(2021年9月13日受理)