

ICP-MS を用いたペットフード中元素の分析

小林 淳¹⁾, 池田啓一²⁾, 杉山英男³⁾

¹⁾ 日本獣医生命科学大学 獣医学部 獣医保健看護学科

²⁾ 北陸大学 薬学部 生体環境薬学講座

³⁾ 松本大学 大学院 健康科学研究科

要 約 誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) とマイクロウェーブ分解装置を用いてペットフード中の複数の元素の一斉分析法について検討した。分解条件については、分解装置メーカー推奨の3条件を比較したところ、試料量の多い条件が、精密性に優れ高感度測定が可能と考えられた。分析条件については、核種の質量によらず同程度の感度で検出が可能ないように機器を調整した後、ペットフード中の分析対象元素の濃度レベルに合わせて条件を変更した。今回、3種のペットフードを用いて分析した結果、Na, K, Ca と比べて Mg は低レベルしか含まれないこと、As, Cd, Hg, Pb などの有害な元素も含まれていることが示された。

キーワード：ペットフード, 元素, ICP-MS

日獣生大研報 65, 4-8, 2016.

はじめに

近年日本においてペットは、愛玩動物から伴侶動物 (コンパニオンアニマル) へと変遷を遂げた。飼育されている動物の中には、家族として扱われるものも多くあり、それに伴ってペット専用の生活用品、食品を扱う産業も大幅に増加している¹⁾。その中で食餌に目を向けると、人とその他の動物とでは必要とする栄養素は異なり、人の食品をそのまま動物に与えるわけにはいかない。このことを補い、簡便に食餌を提供する為、また商品ごとの差別化を図るため、動物種 (犬・猫用など)、品種 (チワワ・ラブラドル用など)、年齢 (幼・成・老)、治療目的 (肥満・糖尿病など) 等の異なる動物用栄養調整保存食 (以下、ペットフード) が市販されている²⁾。これら多くのペットフードは、種類や年齢などを基に栄養バランスを考え、人とは異なりそれのみを持続して食すことで生命や健康が維持できるように考えられて作られているものもあるが、添加物や原料に配慮が不十分なものもあると考えられる^{3,5)}。人においては、食品衛生法などにより使用できる食品添加物の種類、量などは厳密な実験結果をもとに求めた一日摂取許容量 (ADI) に基づいて規定されており、使用されている食品添加物の表示も義務化されているが、ペットフードの場合には法的に規制されているものはごく限られたもののみであり⁶⁾、しかも事前に加工された原材料や少量の包装単位で販売される場合には、表示義務がない。従って栄養バランスを考慮して自主的に成分含量の調整は行われているはずであるが、未規制のために安全・安心がきちんと確保されている状況であるとは言い難い。

以上のことから、家族のように扱われている伴侶動物の健康を考え、またペットフードの製造や流通における品質保障を人の食品の場合と同様に維持・啓蒙するため、今回は複数の元素の測定を行ってその分布状況を確認することにした。現在汎用されている多種の元素の同時分析法は、誘導結合プラズマ質量分析法 (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry; ICP-MS) であることから⁷⁾、今回は ICP-MS を用いて複数の元素の一斉分析を行うことにした。

実 験

試薬及びペットフード

アルカリ (ナトリウム (Na), カリウム (K)) 及びアルカリ土類 (マグネシウム (Mg), カルシウム (Ca)) 元素の標準品として、和光純薬工業 (大阪) 製の原子吸光光度法標準液を使用し、それぞれ 10 ppm 以下に 0.1 N 硝酸で希釈して用いた。その他の元素の標準品としては、Spex 社 (ニュージャージー州, アメリカ) 製の ICP 用混合標準液 XSTC-13 (リチウム (Li), ベリリウム (Be), Na, Mg, アルミニウム (Al), K, Ca, バナジウム (V), クロム (Cr), マンガン (Mn), 鉄 (Fe), コバルト (Co), ニッケル (Ni), 銅 (Cu), ガリウム (Ga), ヒ素 (As), セレン (Se), ルビジウム (Rb), ストロントリウム (Sr), 銀 (Ag), カドミウム (Cd), インジウム (In), セシウム (Cs), バリウム (Ba), 水銀 (Hg), タリウム (Tl), 鉛 (Pb), ビスマス (Bi), トリウム (Th), ウラニウム (U) の 30 種混合) と XSTC-331 (Li, Be, Na, Mg, Al, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, 亜鉛 (Zn), Ga, As, Se,

Rb, Sr, Ag, Cd, Cs, Ba, Tl, Pb, Bi, Th, U の 29 種混合) を使用し, 前者は 100 ppb 以下に 1 N 硝酸で希釈することで標準溶液として使用した。後者は機器メーカーが推奨しているように 10 ppb に調製後, Cs, Bi, U のみを対象として ICP-MS 装置の感度調整に使用した。1 N 硝酸は, 濃硝酸を超純水で希釈することにより調製し, 濃硝酸は和光純薬工業製の有害金属分析用を使用した。試薬の調製や希釈に用いる超純水は, Merck-Millipore (マサチューセッツ州, アメリカ) 製の Elix 3/Milli-Q Element System を用い, 比抵抗値 18 M Ω ·cm 以上に精製したものである。試料や試薬の保存・分解容器は, 希硝酸 (和光純薬工業製一級) で一晩以上浸漬した後, 超純水ですすぎ, 乾燥したものを使用した。その他の試薬は市販特級品を使用した。

ペットフードは, 水分含量・硬さ・包装形態の異なる市販の犬用の総合栄養食 3 種を選択した。性状を Table 1 に示す。

装置の設定と試料の調製

今回の実験で分析に用いた機器は, P-5000 型 ICP-MS 装置 (日立製作所, 茨城) である。本装置はイオントラップ型で, 測定ごとにある質量範囲内の核種のみを電圧を印加して質量分析計に導入し, 検出する。トーチ位置・サンプリング位置の調整によって, イオン種別ごとの質量分析計への導入量の増減, 感度の変更が可能であるが, 本研究では様々な核種の一斉分析を目的としたため, イオン質量に関係なく同水準の感度となる様に, 毎日機器使用前に感度調整を行った。測定対象元素に寄らない共通の装置条件を Table 2 に示す。また個々の元素の測定条件の概略を Table 3 に示す。測定範囲を超えた場合は, 1 N 硝酸で 1/10 ~ 1/1000 に希釈後に再測定した。

ペットフードの分解に用いた機器は, マイクロウェーブ分解装置 Ethos TH (マイルストーンゼネラル, 川崎) である。使用条件を Table 4 に示す。分解溶液としては機器メーカー推奨のプロトコールを基に濃硝酸を使用し, 分解

後の溶液を洗浄済みのポリエチレン製容器に移し, 分解容器にさらに超純水を加えて容器内壁を洗浄し, それも同じポリエチレンの容器に入れることを繰り返して正確に計 50 mL にし (約 1 N の硝酸酸性となる), これをそのまま ICP-MS 測定溶液とした。分解容器は, マイクロウェーブ分解装置専用のテフロン製 (内容積: 約 100 mL) を使用した。

結果および考察

分解条件

ペットフード分解条件は, 分解機器メーカーより人の食品 (生肉, ビーフジャーキーなど) 用に推奨されているプロトコール 3 種を同じフードに供し, その分解の度合い (測定値の高さ, 分解後の反応液の状態) と値の安定性 (同時及び日差再現性) から条件を選択し⁸⁾, それ以外のサンプルの分解にも供した。Table 4 には最終的に決定した条件を示した。プロトコールは 3 つとも使用硝酸量は同じであるが, 使用試料量 (0.3 ~ 1.0 g) と加熱プログラムが異なる。検討したプロトコールにおいて, 使用試料量の多い方が検出限界を低く抑えることができ, 高感度測定が可能となるため⁸⁾, 今回の研究では, 試料を 1.0 g 使用方法を選択した。

また前に使用した試料中成分による分解容器の汚染を防ぐため, 分解後は新たな硝酸のみを加えて同じ分解プログラムを運転し, 環境からの汚染を防ぐために使用時までそのまま硝酸を入れたままで放置し, 次の分解に備えた。

金属測定条件

XSTC-13 標準溶液に含まれる元素の中で, アルカリ (Na, K) 及びアルカリ土類 (Mg, Ca) 金属以外に関し, 0 ~ 100 ppb の範囲で直線検量線の得られる条件を検討した。その結果, Li, Be 以外は決定係数 (R^2) 0.99 以上の良好な検量線が描画可能であった。Li, Be については, 軽重量の核種のためイオントラップが難しく, バラつきが大きく R^2 も 0.7 以下と低かったため, 今回の分析対象からは

Table 1. Kinds of Pet Foods Used

Samples	A	B	C
Moisture	25 ~ 35% (semi-dry type)	75% (wet type)	75% (wet)
Included meat	chicken	beef + chicken	beef
Domestic/ Imported	domestic	imported	imported
Package	bagged	canned	canned

Table 2. Basic Instrumental Parameters of the ICP-MS

High-power output	1.3 kW
Plasma gas (Argon) flow rate	14 L/min
Auxiliary gas (Helium) flow rate	1.2 L/min
Carrier gas (Air) flow rate	1.3 L/min
Detector voltage	-2.1 kV
Horizontal torch position	(1.5 mm)
Vertical torch position	(1.2 mm)
Sampling position	(1.0 mm)
Ion collection time	100 ms

Daily adjustment of torch and sampling positions are needed by using the ICP elemental mixture of 10 ppb (XSTC-331 of Spex).

Table 3. Measurement Conditions for Each Element

Elements	Mass number	Data collection voltage (V)	Ion level	FNF	Guide voltage (V)
Li	7	1.0	4.9	6.0–8.0	1.0
Be	9	1.3	6.3	8.0–10.0	1.0
Na*	23	3.5	16.1	22.0–24.0	5.0
Mg*	24	3.0	16.8	23.0–25.0	5.0
Al	27	4.5	18.9	26.0–28.0	5.0
K*	39	5.0	27.3	38.0–40.0	10.0
Ca*	44	3.0	35.0	43.0–45.0	20.0
V	51	5.0	35.7	50.0–52.0	50.0
Cr	52	5.0	36.4	51.0–53.0	50.0
Mn	55	3.5	38.5	54.0–56.0	50.0
Fe	56	3.5	39.2	55.0–57.0	50.0
Co	59	5.0	41.3	58.0–60.0	50.0
Ni	60	3.0	42.0	59.0–61.0	50.0
Cu	63	5.0	44.1	62.0–64.0	50.0
Ga	69	5.0	48.3	68.0–70.0	50.0
As	75	5.0	52.5	74.0–76.0	50.0
Se	80	5.0	57.0	79.0–81.0	50.0
Rb	85	5.0	59.5	84.0–86.0	50.0
Sr	88	5.0	61.6	87.0–89.0	50.0
Ag	107	5.0	74.9	106.0–108.0	50.0
Cd	114	5.0	79.8	113.0–115.0	50.0
In	115	5.0	80.5	114.0–116.0	50.0
Cs	133	5.0	93.1	132.0–134.0	50.0
Ba	138	3.0	96.6	137.0–139.0	50.0
Hg	202	5.0	141.4	201.0–203.0	50.0
Tl	205	5.0	143.5	204.0–206.0	50.0
Pb	208	5.0	145.6	207.0–209.0	50.0
Bi	209	5.0	148.0	208.0–210.0	50.0
Th	232	5.0	162.4	231.0–233.0	50.0
U	238	5.0	166.6	237.0–239.0	50.0

*Ion collection times for Na, Mg, K and Ca are 1 ms, and the others are 100 ms.

Table 4. A Decomposition Condition of the Pet Food Samples

Amount of sample	1.0 g
Acid	8 mL nitric acid
Heat condition	50 °C (2 min) → 30 °C (3 min) → 180 °C (25 min) → 150 °C (1 min) → 180 °C (19 min)

除くことにした。

Na, K, Mg, Ca の 4 元素については、他の元素と比べてイオン取り込み時間を短縮することにより高濃度 (~10 ppm) の測定に対応できるようにした。これ以外の元素のイオン取り込み時間が 100 ms であるのに対して、1 ms に変更するだけで他の条件を変更しなくても $R^2 \geq 0.99$ の良好な直線的な検量線が得られることが明らかとなった⁸⁾。

ペットフードの測定

結果を Table 5 に示す。ペットフード内には Na, K, Ca が mg/g オーダーで含まれていたのに対して、Mg は $\mu\text{g/g}$ オーダーでしか存在せず、Fe や Cu と近似したレベルであった。

これまでにペットフード安全法で監視を受けている As, Cd, Pb と毒性の高い Hg の 4 元素のみを検出対象とした報告がある⁵⁾。また検量線を毎回引かない ICP-MS の半定量モードを用いた迅速測定法についても報告されている⁹⁾。前者については、現時点で毒性が極めて高いと考えられる物質であることは確かであるが、その測定は重要であるが、ペットフードの品質など別な側面から考えてみると、必須性のある K, Cr, Fe, Cu などの元素の測定も重要性が高いと考えられる。半定量モードについてはすべてとは言い切れないが、残念ながら ICP-MS の機器そのものの特徴として機器応答の時間経過における減衰があり、ある元素があるかないか、あるいはどのくらいのレベルで存在しているかという半定量のみには十分使用できるかもしれないが、きち

Table 5. Measurement of the Pet Food Samples

Measured elements	Concentration		
	Sample A	Sample B	Sample C
Na*	5.04	1.89	1.40
Mg*	2.34	0.0791	0.139
Al	<0.001	2.31	13.1
K*	<0.001	2.18	1.98
Ca*	<0.001	2.84	3.83
V	0.396	0.244	0.0195
Cr	0.407	0.211	0.0345
Mn	41.8	11.5	22.2
Fe	<0.001	35.7	33.2
Co	0.434	0.108	<0.001
Ni	0.437	0.467	0.0176
Cu	17.4	12.5	1.26
Ga	0.0771	0.0985	<0.001
As [#]	0.234	0.171	0.147
Se	0.119	0.286	0.143
Rb	3.93	1.81	1.23
Sr	13.6	2.30	1.83
Ag	<0.001	0.0562	<0.001
Cd [#]	<0.001	0.114	<0.001
In	<0.001	0.0107	<0.001
Cs	<0.001	0.0419	<0.001
Ba	2.42	0.332	0.415
Hg [#]	0.0748	0.112	0.0111
Tl	<0.001	0.00747	<0.001
Pb [#]	<0.001	0.940	0.00269
Bi	<0.001	0.00246	<0.001
Th	<0.001	0.0335	<0.001
U	<0.001	0.0227	<0.001

*Only Na, Mg, K and Ca are shown in the units of mg/g, and the others in $\mu\text{g/g}$.

[#]Low-dose toxic

n = 3.

んと数値を示して定量することは困難であると思われる。

今回の方法を用いることで、28元素の同時分析が可能となった。この中には、有害元素と必須元素が含まれている。今回の研究では、その測定データが正確であるか、既存の方法と比べてバラつきが同等以下であるかについて検討していない。今後、検定用標準物質の使用や多重測定により明らかにする必要があると思われる。さらに多くのペットフード試料について分析を行い、消費者側としては流通するペットフードに有害なものが混入していないかの監視に、生産者側としては品質の一定したペットフードが製造出来ているかの管理に役立てることが出来ればよいと考える。

ま と め

今回、ICP-MS装置を用いて、ペットフード中の複数の元素の一斉分析法について検討した。前処理として、マイクロウェーブ分解装置を用いた硝酸分解後、調製した溶液をICP-MSに適用した結果、28元素の一斉分析が可能と

なった。

今回の結果は、有害元素と必須元素等を同時に測定するものであり、ペットフードの安全性の監視のみならず、品質維持にも寄与することと思われる。

参 考 文 献

- 1) Spex CertiPrep Co. : Investigation of Hazardous Heavy Metals (Minerals) Contained in the Pet Food -Pet Food Case Files. http://petfood.7pot.net/heavy_metal.html.
- 2) 中田裕二, 折笠 瞳, 西村 勉, 前川吉明 : ペットフード中リン, 鉄, カルシウム, マグネシウム, 亜鉛, マンガンおよび銅の分析における ICP 発光分析法の有用性. ペット栄養学会誌, 8 (3), 82-88 (2005).
- 3) 藤井立哉 : 市販ペットフードについて. ペット栄養学会誌, 13, S4-7 (2010).
- 4) 草場治雄 : 犬猫の診療とペットフード. ペット栄養学会誌, 14 (1), 42-44 (2011).

- 5) 寺地智弘, 舟場正幸, 松井 徹: ネコ用ウエットフード中の重金属濃度. ペット栄養学会誌, **14** (1), 18-22 (2011).
- 6) 農林水産省・環境省: 愛玩動物用飼料の安全性の確保に関する法律 (ペットフード安全法) に関する事業者マニュアル, 2011. <http://www.maff.go.jp/j/syouan/tikusui/petfood/pdf/manual.20120501.pdf>.
- 7) 有山 薫: 元素及び重元素同位体組成による農作物の産地判別技術. 分析化学, **63** (3), 215-220 (2014).
- 8) 小林 淳, 寺田 宙: ICP-MS を用いたペットフード中の 1 族及び 2 族金属元素の定量. 日獣生大研報, **64**, 28-33 (2015).
- 9) 寺地智弘, 西浦 誠, 舟場正幸, 松井 徹: ICP-MS 半定量法によるキャットフード中有害金属類の同時分析. ペット栄養学会誌, **16** (1), 13-17 (2013).

Determination of Several Elements in Pet Foods by ICP-MS

Jun KOBAYASHI¹⁾, Keiichi IKEDA²⁾, Hideo SUGIYAMA³⁾

¹⁾School of Veterinary Nursing and Technology, Faculty of Veterinary Medicine,
Nippon Veterinary and Life Science University

²⁾Department of Bioenvironmental Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Hokuriku University

³⁾Graduate School of Health Sciences, Matsumoto University

Abstract

We developed simultaneous determination method of some elements in pet foods by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) with microwave decomposition. For the sample degradation, three apparatus conditions recommended by the manufacturer were compared. Use of 1.0 g samples afforded the highest precision and sensitive. For elemental analysis, after adjusting the device to allow detection at comparable sensitivity regardless of the mass of the nuclide, 28 elements in the pet foods were able to be quantified. As the result of analysis of the three pet foods, magnesium was contained at lower levels compared with sodium, potassium and calcium. Further it was found that harmful metals, such as arsenic, cadmium, mercury and lead were also contained.

Key words : pet food, element, ICP-MS

Bull. Nippon Vet. Life Sci. Univ., **65**, 4-8, 2016.