

Agilent 7800 ICP-MS と ISIS 3 による 動物飼料のハイスループット分析

動物飼料中の複数の元素に関する
EN 17053:2018 規制項目をクリアするために



著者

Daniel Oppedisano
Agilent Technologies, Inc.

はじめに

家畜に与える飼料の品質は動物の健康と生育に直接影響します。また、動物由来製品の消費者の食品摂取にも影響します。動物飼料の元素含有量をモニタリングして栄養素や添加物に関する情報を農業従事者に提供することで、農業従事者は最適な家畜飼料を選択することができます。また、農業残留物や汚染物質の特定により食品安全性も確保できます。欧州連合は先頃、新しい欧州規格である EN 17053:2018「Animal feeding stuffs - Methods of sampling and analysis - Determination of trace elements, heavy metals, and other elements in feed by ICP-MS (multi-method)」を公表しました (1)。この規格の対象には、As、Cd、Co、Cu、Fe、Hg、Mn、Mo、Pb、Se、Ti、U、Zn の 13 種類の元素が含まれます。しかし通常、製造品質保証および品質管理 (QA/QC) ラボのルーチン分析で行われるのは、栄養素元素 (Ca、K、Na、Mg、P、S) とその他の微量元素 (Ni、Sr、Al、B、Cr、V) の測定です。

飼料は動物の要件に応じてさまざまなものがあり、ペレット、草/干し草、穀物などさまざまなタイプがあります。飼料は大量生産されるため、テストサンプルも多くなります。ICP-MS は多元素同時分析機能を備え、高感度かつ高速であるため、飼料の定量分析に最適です。しかし、サンプルは Ca、K、Mg、Na などの主要栄養素元素の濃度が高く、総溶解固形分 (TDS) 含有量が多くなるため、分析が困難になる場合があります。高マトリックスサンプルが機器の安定性と精度に影響する可能性も考えられます。動物飼料中に含まれる元素の数が多い場合、さまざまな多原子干渉が発生して特定の元素に影響することがあります。また、飼料中の元素濃度の範囲が広いと、マトリックスレベルのばらつきが大きくなり、分析要件を満たすためには各サンプルの複数回の希釈が必要になる場合があります。

Agilent 7800 ICP-MS に ISIS 3 および SPS 4 オートサンプラを装着することで、分析に関するこれらの問題に対処し、動物飼料のルーチン分析を適切に行うことができます。

1. 7800 は高温のロバストプラズマを使用します。CeO/Ce 比が 1 % 未満のため、多くのサンプルマトリックスを効率よく分解できます。TDS 含有量が 3 % 以下の高マトリックスサンプルでは、7800 に標準搭載されている高マトリックス導入 (HMI) が、エアロゾル希釈によりインタフェースのマトリックス導入を抑えます。また、追加の液体希釈に伴う所要時間が短縮され、エラーの可能性が低減されるため、サンプル前処理が簡単になります (2)。HMI モードは ICP-MS MassHunter ソフトウェアのプリセットメソッドの 1 つとして利用することができ、ルーチン分析のメソッドを簡単に開発できます。また、ICP-MS MassHunter ソフトウェアには自動最適化機能と自動スタートアップ機能があり、信頼性の高いメソッドを簡単に開発できます。
2. 7800 ICP-MS には第 4 世代オクタポールリアクションシステム (ORS⁴) コリジョンリアクションセル (CRC) が搭載されており、干渉を効率よく除去することができます。ORS⁴ は、運動エネルギー弁別 (KED) を用いて一般的なマトリックス由来の多原子干渉の透過を減らすヘリウムコリジョンモード (He モード) 向けに最適化されています (3)。高エネルギーヘリウムモード (HEHe) では、反応性ガスを使用せず、強力な結合エネルギーを用いて多原子イオンを破壊することができます。H₂ や NH₃ などの反応性ガスを使用せずに He モードを使用することで、CRC で新たな分子干渉が発生せず、データ品質が向上します。

3. 7800 ICP-MS には、高感度でダイナミックレンジの広い (10 桁) 直交型の検出器 (ODS) が搭載されています。この検出器では微量元素 (1 ppt 未満)、微量元素 (ppb)、主要栄養素 (数百または数千 ppm) を同時に測定できます。濃度上限が高く範囲外の値によるサンプル再分析が減るため、ラボでのさまざまなサンプルマトリックス分析において高い生産性を維持できます。
4. アジレントの第 3 世代インテグレートサンプル導入システム (ISIS 3) ディスクリットサンプリングデバイスは、高サンプルスループット用に最適化されています。ISIS 3 では高速ピストンポンプを使用し、サンプルループを高速に充填 (ロード) します。その後、7 ポートの切り替えバルブで一定量のサンプルを移送中のキャリアストリームに注入します。その間、次のサンプル分析に備えて、オートサンブラプローブとオートサンブララインを完全に洗浄します。このように、ISIS 3 ではサンプル取り込みステップと洗浄ステップがデータ取り込みステップと分かれているため、分析時間を短縮できます (4)。

このアプリケーションでは、EN17053:2018 規格に示された 13 元素を含む 25 元素を動物飼料中で測定しました。Agilent 7800 ICP-MS と ISIS 3 および SPS 4 オートサンプラを用い、Al、As、B、Ca、Cd、Co、Cr、Cu、Fe、Hg、K、Mg、Mn、Mo、Na、Ni、P、Pb、S、Se、Sr、Ti、U、V、および Zn を分析しました。

装置構成

HMI、Ni インタフェースコーン、ORS⁴ が標準装備された Agilent 7800 ICP-MS と、オプションの ISIS-3 を使用しました。この ICP-MS には、MicroMist ガラス同軸ネブライザ、石英製スコット型スプレーチャンバ、および内径 2.5 mm のインジェクタ付き石英製トーチからなるサンプル導入システムが標準装備されていました。ICP-MS への標準液およびサンプルの導入には、Agilent SPS 4 オートサンプラを使用しました。

メソッド開発の簡略化とスタートアップの高速化のため、「High Matrix」プリセットメソッドを使用して機器条件を設定しました。ICP-MS MassHunter ソフトウェアで「HMI-4」を選択し、表 1 (影付き) に示すプラズマ条件を自動的に設定しました。ISIS 3 のパラメータを表 2 に示します。25 種類の分析対象物の測定におけるサンプル間の平均分析時間は 122 秒でした。

表 1. ICP-MS の使用条件

ICP-MS のパラメータ	He モード
RF 出力 (W)	1600
サンプリング深さ (mm)	10
ネブライザガス流量 (L/min)	0.62
希釈ガス流量 (L/min)	0.37
スプレーチャンバ温度 (°C)	2
ポンプスピード (rps)	0.10
レンズチューン	オートチューン
He セルガス流量 (mL/min)	5.0 (9.0*)
エネルギー弁別 (V)	5.0 (7.0*)
データ取り込み時間 (s)	77

HMI 条件 (青色でハイライトされたパラメータ) は、スタートアップ時に自動的に最適化されました。
* S、P、Se については HEHe モードを使用しました。

表 2. ISIS 3 の設定

パラメータ	設定	
ループの長さ (内径 2 mm)(cm)	25	
ループの量 (mL)	0.80	
	取り込み時間 (秒)	ポンプスピード (%)
サンプルロード (s)	7	36
安定化 (s)	20	5
ブロープの洗浄 (サンプル) (s)	25	5
ブロープの洗浄 (標準) (s)	25	5
ブロープの洗浄 1 (s)	5	80
ブロープの洗浄 2 (s)	10	5
オプションのループブロープ洗浄 (s)	5	60
オプションのループ洗浄 (s)	9	36
サンプル間の分析時間 (s)	122	

標準液の前処理

多元素環境キャリブレーション用標準液 (Agilent Technologies、p/n 5183-4688)、1000 mg/L 単元素標準液 (Al、B、Hg、Sr)、10,000 mg/L キャリブレーション用標準液 (Ca、K、P、S) (関東化学株式会社、日本) を用いて、キャリブレーション用標準液と QC 標準液を調製しました。濃度範囲を表 3 に示します。Al、Ca、K の単元素標準液を用いて、これらの主要元素のキャリブレーション範囲を拡大しました。電子グレード (EL) の硝酸および塩酸 (関東化学株式会社、日本) を用いて、キャリブレーション用標準液とサンプルのマトリックスマッチングを行いました。

表 3. キャリブレーション用標準液の濃度

元素	濃度範囲 (ppb)
Hg	0.2 ~ 2
B	0.2 ~ 200
Al、Sr	2 ~ 2000
As、Cd、Co、Cr、Cu、Mn、Mo、Ni、Pb、Se、Ti、U、V、Zn	0.1 ~ 1000
Fe、Mg、Na、P、S	10 ~ 100,000
K	10 ~ 200,000
Ca	10 ~ 500,000

検量線の中間点の濃度で、継続的キャリブレーション確認 (CCV) 用標準液を調製しました。CCV 標準液の測定は、12 サンプルごとに定期的に行いました。

アジレントの内部標準混合液 (p/n 5183-4681) とロジウム (関東化学株式会社、日本) を用いて、1 ppm の ⁶Li、Sc、Ge、Y、In、Tb、Bi、Rh を含む内部標準 (ISTD) 溶液を調製しました。この溶液は ISIS 3 で約 1:15 に希釈され、キャリア/サンプル流量に自動的に添加されます。分析には Li、Sc、Y、Rh、Tb のみを使用しました。

サンプル前処理

さまざまなサンプルタイプを選択し、飼料試験ラボでよく分析されるサンプルを再現しました。ERM-CD281 ホソムギ (IRMM、ベルギー)、IPE-133 トウモロコシ、IPE-148 ルーサン (WEPAL、オランダ) を含む 3 つの認証標準物質 (CRM) を使用しました。鶏用混合穀物とウサギ用牧草の 2 つの動物飼料を現地の小売店で購入しました。これらの飼料サンプルを 0.5 mm 未満の粒子サイズになるまで刻んですり潰しました。

単一のマイクロ波分解法により CRM とサンプルを前処理し、1 回だけ希釈しました。サブサンプル 0.20 g を正確に計量して PTFE マイクロ波容器内に置き、HNO₃ 1.5 mL と HCl 0.75 mL を添加しました。サンプルを 30 分間放置した後にマイクロ波分解システム (Mars 6、CEM) 内に置き、表 4 のプログラムにより分解しました。その後、完全に分解されたサンプルを脱イオン水で 50 mL に希釈しました。

表 4. マイクロ波分解のパラメータ

ステージ	温度 (°C)	時間 (min)	出力 (W)
1 - 昇温	180	5	600
2 - 昇温	210	10	1800
3 - 維持	210	30	1800
4 - 冷却	-	30	-

結果と考察

キャリブレーション

すべての元素でキャリブレーション係数が 0.9999 を超え、7800 ICP-MS が広範な濃度の分析対象物を測定できることが示されました。図 1 の代表的な 4 つの検量線が示すように、主要元素 (Ca、最大 500 ppm) と微量元素 (As および Cd、最大 1000 ppb、Hg 最大 2 ppb) で優れた直線性が得られました。

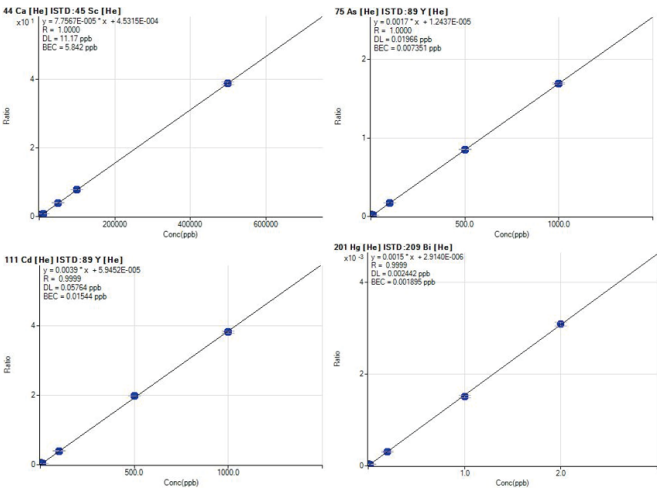


図 1. ⁴⁴Ca、⁷⁵As、¹¹¹Cd、²⁰¹Hg の検量線の直線性

表 5 の取り込みパラメータを用いて、He モードですべての分析対象物を測定しました。マトリックスマッチング済みのキャリブレーションブランクを 10 回測定し、3 シグマメソッド検出下限 (MDL) と 10 シグマ定量下限 (LOQ) を計算しました (表 5)。LOQ の報告値 (希積分を補正) は EN 17053:2018 規格の仕様を大きく下回り、このアプリケーションにおける 7800 ICP-MS の感度が確認されました。

表 5. 動物飼料サンプルにおける 7800 ICP-MS の取り込みパラメータ、MDL、LOQ と、EN 17053:2018 規格のメソッドで要求されている LOQ

元素および質量数	積分時間 (s)	溶液の MDL (ppb)	動物飼料の LOQ (mg/kg)	EN:17053 で要求されている LOQ (mg/kg)
11 B	0.3	0.81	0.66	
23 Na	0.3	2.49	2.05	
24 Mg	0.3	0.51	0.42	
27 Al	0.5	0.66	0.54	
31 P	0.3	2.21	1.82	
34 S	0.3	215	177	
39 K	0.3	10.4	8.55	
44 Ca	0.3	5.82	4.80	
51 V	0.3	0.011	0.009	
52 Cr	0.3	0.023	0.019	
55 Mn	0.3	0.033	0.027	0.10
56 Fe	0.3	0.18	0.15	5.0
59 Co	0.3	0.004	0.003	0.10
60 Ni	0.3	0.053	0.04	
63 Cu	0.3	0.034	0.028	
66 Zn	0.5	0.907*	0.75	5.0
75 As	2.0	0.012	0.010	0.05
78 Se	3.0	0.040	0.033	
88 Sr	0.3	0.019	0.016	
95 Mo	0.3	0.005	0.004	0.10
111 Cd	0.3	0.010	0.008	0.03
201 Hg	1.0	0.003	0.002	0.04
205 Tl	0.3	0.007	0.006	0.10
208 Pb**	0.6 (3 x 0.2 s)	0.006	0.005	0.10
238 U	0.1	0.001	0.001	0.10

* 機器の Zn の DL は 0.12 ppb であり、ラゴ環境からの Zn の混入が考えられます。
** Pb は最も豊富な 206、207、208 の 3 種類の同位体の合計により測定しています。

ISTD 回収率

ISTD 回収率試験として、266 個の溶液を分析し、⁶Li、⁴⁵Sc、⁸⁹Y、¹⁰³Rh、¹⁵⁹Tb を 9 時間にわたりモニタリングしました。図 2 が示すとおり、すべての ISTD の測定値が ±20 % の管理限界内でした。この優れた安定性の結果から、長時間の分析においても再キャリブレーションを必要としない 7800 ICP-MS と HMI の高いマトリックス耐性が示されています。また、ロバストプラズマ条件でさまざまなサンプルマトリックスを効率よく分解することができ、インタフェース上にマトリックスが多く堆積することがありませんでした。機器の安定性は大量のサンプルを分析するラボの生産性に大きく影響します。

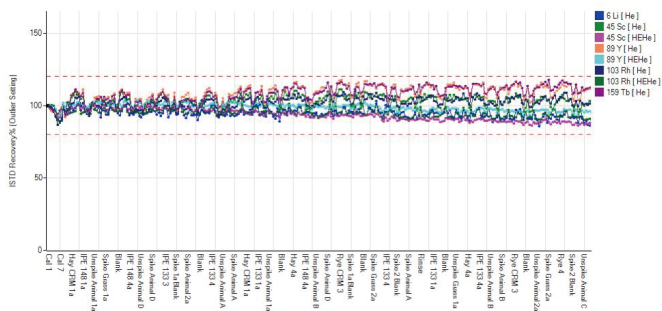


図 2. 9 時間にわたる 266 個の溶液の ISTD 回収率

QC 回収率

12 サンプルごとに定期的な CCV 標準液の測定を行いました。EN 17053:2018 規格には CCV 回収率に関するメソッド要件は規定されていませんが、一般的に受け入れられている QC 回収率限界は $\pm 10\%$ です。分析対象物の QC 回収率がこれらの限界範囲外である場合、再キャリブレーションが頻繁に発生します。図 3 は、CCV 標準液の QC 回収率が 9 時間にわたり $\pm 10\%$ の限界範囲内であることを示しています。

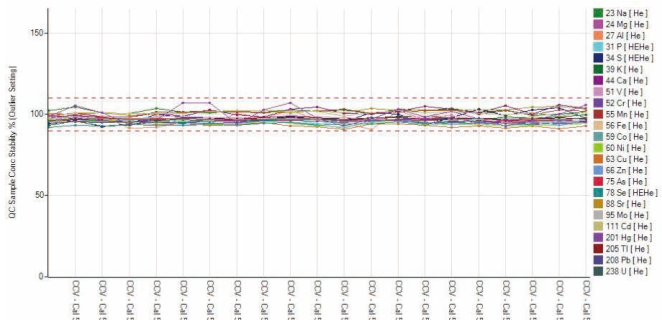


図 3. 9 時間にわたる CCV 標準液の QC 回収率

CRM 回収率

同じ CRM を 3 つ調製し、1 台の機器を使用して異なる日に 3 回の測定を実行しました。表 6 は CRM の平均測定濃度と、認証値と比べた平均回収率を示しています。ほぼすべての認証済み元素に対する回収率の結果が、証明書に示された値の $\pm 10\%$ 以内でした。このデータから 7800 ICP-MS の精度が高く、He モードの ORS⁴ が干渉除去に有効であることがわかります。IPE 148 ルーサンサンプル中の ^{23}Na の回収率が 86 % になっているのは認証値の不確か率が高いためです。CD281 ホソムギ中の ^{31}P の回収率は参照値の $\pm 15\%$ でした。回収率データの取得は同じ分析メソッドを使用して行い、すべての元素で同じ希釈レベルを使用しました。CD281 の K の 3.3 % と、IPE 133 の Hg の 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ という結果が示すとおり、幅広いダイナミックレンジで良好な精度が得られました。

添加回収率

メソッドで分析する元素の一部には認証値がないため、添加回収試験を行って 7800 ICP-MS の性能を検証しました。鶏用混合穀物サンプルとウサギ用牧草サンプルを CRM と同じ単一のマイクロ波分解法で前処理し、最終的な希釈係数が 250 倍になるようにしました。表 7 に示すとおり、すべての元素の添加回収率が予測値の $\pm 10\%$ になりました。ダイナミックレンジ 10 桁の ODS 検出器により、同一の分析で約 300,000 ppb (300 ppm) の Ca から 0.009 ppb (9 ppt) の Tl までの元素を正常に測定できました。

表 6. 3 つの認証標準物質 (CRM) のすべての元素の回収率 (n=6)。斜体は参照値を示し、ダッシュ記号は認証値や参照値がないことを示します。

	EDM-CD281 ホソムギ				IPE 133 トウモロコシ				IPE 148 ルーサン			
	濃度測定値 (mg/kg)	認定濃度 (mg/kg)	不確実性 (mg/kg)	回収率 (%)	濃度測定値 (mg/kg)	認定濃度 (mg/kg)	不確実性 (mg/kg)	回収率 (%)	濃度測定値 (mg/kg)	認定濃度 (mg/kg)	不確実性 (mg/kg)	回収率 (%)
11 B	5.28	5.50	0.5	96	2.82	-			33.93	34.4	2.69	99
23 Na	3661	4000		92	94.5	103	22.5	92	173	200	35.3	86
24 Mg	1485	1600		93	1129	1150	85	98	1583	1640	102	97
27 Al	30.5	-			98.9	-			348	-		
31 P	2416	2800		86	1389	1490	105	93	2234	2330	118	96
34 S	3173	3400		93	861	935	86.3	92	2833	2950	207	96
39 K	33089	34000		97	7886	7890	465	100	25739	26200	1330	98
44 Ca	6167	6300		98	1749	1870	151	94	21358	22800	1500	94
51 V	0.22	-			0.39	0.40	0.04	98	0.85	0.810	0.15	105
52 Cr	23.8	24.8	1.3	96	0.41	0.45	0.11	91	0.858	0.886	0.17	97
55 Mn	82.0	82.0	4	100	124	122	8.1	102	40.6	40.1	2.78	101
56 Fe	175	180		97	194	191	19	102	247	233	27.7	106
59 Co	0.24	-			0.08	0.08	0.01	102	0.29	0.28	0.06	104
60 Ni	15.0	15.2	0.6	99	0.54	0.52	0.07	104	1.11	1.07	0.12	104
63 Cu	10.5	10.2	0.5	103	6.40	6.51	0.59	98	4.05	4.32	0.54	94
66 Zn	31.4	30.5	1.1	103	48.3	47.6	3.58	101	19.5	19.9	1.74	98
75 As	0.040	0.042	0.01	95	0.15	0.14	0.02	104	0.43	0.43	0.05	100
78 Se	0.021	0.023	0.004	93	0.02	-			0.13	0.12	0.03	107
88 Sr	22.4	-			3.15	3.31	0.28	95	53.6	55.5	3.2	97
95 Mo	2.06	2.22	0.12	93	0.16	0.17	0.03	96	0.35	0.36	0.05	96
111 Cd	0.12	0.12	0.007	98	0.27	0.26	0.02	105	0.050	0.051	0.01	98
201 Hg	0.016	0.016	0.0022	102	0.0056	0.0054	0.001	103	0.0086	0.0083	0.0007	104
205 Tl	0.01	-			0.008				0.02	-		
208 Pb	1.70	1.67	0.11	102	0.90	0.92	0.09	97	0.86	0.86	0.07	100
238 U	0.007	-			0.01				0.04	-		

表 7. 鶏用穀物およびウサギ用飼料の添加回収率

元素および 質量	添加濃度 (ppb)	無添加の鶏用穀物 (ppb)	添加済みの鶏用穀物 (ppb)	添加回収率 (%)	無添加のウサギ用牧草 (ppb)	添加済みのウサギ用 牧草 (ppb)	添加回収率 (%)
11 B	50	33.9	86.1	104	13.6	65.0	103
23 Na	10000	4548	14952	104	118	10590	105
24 Mg	4000	7670	12014	109	3740	7872	103
27 Al	300	181	488	102	42.3	351	103
31 P	5000	16916	22114	104	6834	12245	108
34 S	8000	9219	17502	104	4377	12809	105
39 K	20000	21373	41758	102	67297	86456	96
44 Ca	20000	301163	322403	106	7098	26937	99
51 V	10	0.40	10.6	102	0.15	10.4	103
52 Cr	50	0.96	51.9	102	0.086	50.8	102
55 Mn	200	320	526	103	110	318	104
56 Fe	500	312	837	105	110	648	108
59 Co	1	0.34	1.23	90	0.089	1.02	93
60 Ni	100	4.64	103	99	1.94	105	103
63 Cu	50	42.8	97.4	109	13.6	68.6	110
66 Zn	100	200	303	103	154	263	109
75 As	1	0.39	1.29	91	0.10	1.04	94
78 Se	1	0.84	1.78	94	0.015	0.98	97
88 Sr	50	1025	1074	98	30.2	81.3	102
95 Mo	10	2.28	13.0	107	1.20	11.6	104
111 Cd	1	0.52	1.46	93	0.059	1.01	95
201 Hg	1	0.014	1.01	100	0.018	1.01	99
205 Tl	10	0.13	10.3	102	0.009	10.2	102
208 Pb	10	0.30	10.7	104	0.050	10.7	107
238 U	10	0.078	10.1	100	0.023	10.2	101

結論

Agilent 7800 ICP-MS、HMI、および ISIS 3 ディスクリットサンプリングデバイスを用いて、さまざまな動物飼料の CRM およびサンプル分解物を分析しました。122 秒でのサンプル分析を最適化することで、ハイスループット用にメソッドを最適化しました。ISIS 3 を使用するとサンプル取り込み時間と洗浄時間が大幅に短縮され、高速取り込み後の安定化が不要であるため、分析時間を短縮できます。

ICP-MS MassHunter の「High Matrix」プリセットメソッドを使用して、メソッドの開発と処理を簡素化しました。7800 のロバストプラズマと HMI を用いることにより、複雑でばらつきの大きい動物飼料サンプルを単一のサンプル前処理メソッドにより測定することができました。マイクロ波分解でサンプルを前処理した後、追加の液体希釈は不要でした。従来の液体希釈の代わりに HMI エアロゾル希釈を使用することで、一般的な手動または自動の希釈手順に伴う時間とコストを省くことができます。

3 つの CRM の分析と 2 つの実際の動物飼料サンプルの添加により、メソッドの精度を評価しました。He モードを使用して一般的な多原子干渉をすべて除去し、幅広い濃度にわたるすべての元素で優れた回収率が得られました。7800 ICP-MS の検出下限は EN 17053:2018 規格のメソッドで規定されている要件を上回りました。また、9 時間にわたる ISTD 回収率試験と QC 回収率分析でも優れた安定性を示しました。

このメソッドは、EN 17053:2018 などの規格のメソッドに準拠した動物飼料のルーチン多元素分析に適しています。また、栄養素元素やその他の微量元素および微量元素の QA/QC 試験にも適しています。

参考文献

1. Animal feeding stuffs: Methods of sampling and analysis – Determination of trace elements, heavy metals and other elements in feed by ICP-MS (multi-method), NSAI standards, 2018, EN 17053
2. Plasma Robustness In ICP-MS Benefits of a Low CeO/Ce Ratio, Agilent Technologies, publication number 5990-8060EN, https://www.agilent.com/cs/library/flyers/public/5990-8060EN_Flyer_ICP-MS_HMI.pdf
3. ORS⁴ and Helium Mode for More Effective Interference Removal in Complex Samples, Agilent Technologies, publication number 5990-7574EN, https://www.agilent.com/cs/library/articlereprints/public/5990_7574EN.pdf
4. Critical Factors Affecting Cost-of Ownership of ICP-MS, Agilent Technologies, publication number 5991-9342EN <https://www.agilent.com/cs/library/technicaloverviews/public/5991-9342EN-cost-of-ownership-icp-ms-technicaloverview.pdf>

ホームページ

www.agilent.com/chem/jp

カスタマコンタクトセンタ

0120-477-111

email_japan@agilent.com

本製品は一般的な実験用途での使用を想定しており、医薬品医療機器等法に基づく登録を行っておりません。本文書に記載の情報、説明、製品仕様等は予告なしに変更されることがあります。

アジレント・テクノロジー株式会社
© Agilent Technologies, Inc. 2019
Printed in Japan, May 8, 2019
5994-0846JAJP