

ICP - Mass Spectrometry

作者:

EwaPruszkowski

Ken Neubauer

PerkinElmer Inc.

Shelton, CT

NexION 2000：用于测定血液和血清中微量元素的理想工具

简介

多年来，电感耦合等离子体质谱法 (ICP-MS) 一直被用于生物体液微量

元素分析。研究人员已经发现了某些关键元素含量与疾病、代谢失调、环境暴露和营养状况之间的关联。血液和血清是两种常见的生物体液，这两种体液中微量金属元素的分析一直是个难题。血液是一种复杂的液体混合物，其主要成分是水，还含有蛋白质、葡萄糖、矿物盐、性激素和红白血细胞。血清来自血液，具有与之类似的成分，但不含红白细胞或纤维蛋白原。

ICP-MS 可以检测出复杂基体中低浓度水平的元素含量，它是微量金属元素分析最为有效的技术，所以它是测定血液和血清中微量金属元素含量的理想工具，尤其是当某些待测元素的正常浓度水平极低时。但是由于这些基体的属性极为复杂，在 ICP-MS 分析过程中可能遇到由基体引起的质谱干扰。通常，分析物的低浓度、由基体引起的质谱干扰和样品的复杂性三个问题，一起给 ICP-MS 分析带来了挑战。

珀金埃尔默公司的 NexION® 2000 ICP-MS 所具备的多种特性使它成为了测定血液和血清中微量元素的理想工具。首先，配合独特的固态射频发生器、三锥接口和四极杆离子偏转器，NexION 2000 的基体耐受性非常高，因此样品简单稀释后就可以进样分析。其次，如果将 NexION 2000 和 FAST（快速自动进样）系统相搭配，可以大大提高临床检测实验室的效率。最后一点，NexION 2000 的通用池系统具有标准（Standard）、碰撞（KED）和反应（DRC）三种模式，并具有三个气路，可选择的碰撞/反应气体种类也很丰富，所以 NexION 2000 能够最有效地排除干扰，准确地测定最低的浓度水平。排除了因为仪器导致结果偏差的各种因素，影响结果准确性的唯一因素就是试剂和实验室环境的清洁度。

本文介绍了 NexION 2000 ICP-MS 在血液和血清微量元素分析中的各项优势，探索了简化样品前处理的可能性，NexION 2000 的各项优越性能直接简化了样品的制备过程。

实验

样品和样品制备

为了确定该方法的准确性，采用了以下标准物质：血液中的微量元素和血清中的微量元素标准样品（UTAK® Laboratories Inc., Valencia, California, USA），ClinChek® 血液质控样和 ClinChek® 血清质控样（Recipe Chemicals and Instruments GmbH, Munich, Germany）。分析了每一种参考物质的两种或三种浓度水平（正常水平、中间水平和高水平）。

采用两种不同的方法制备血液和血清样品：用酸性稀释液或基本稀释液稀释 50 倍。由于所有的标样和待测样品都稀释相同的倍数，所以直接将内标（Ga、Rh 和 Ir）添加至稀释液即可。

酸性稀释液的配制方法为 0.5% HNO₃（Veritas, DoubleDistilled, GFS Chemicals Inc., Powell, Ohio）+0.05% Triton-X（Sigma-Aldrich™, St. Louis, Missouri, USA）+2% 甲醇（AlfaAesar™, Tewksbury, Massachusetts, USA），（全部 v/v）+ 0.25 mg/L 金（Au）+ 内标。硝酸可使溶液中的元素保持稳定，但只能使用低浓度硝酸，以防止蛋白质和细胞碎片沉淀。Triton-X 被用来清洗雾室，并促进蛋白质和细胞膜的溶解。使用甲醇提高雾化效率和离子化，同时金元素用来保持汞的稳定。

基本稀释液的配制方法为 0.5% TMAH（Sigma-Aldrich™）+ 0.05% Triton-X（Sigma-Aldrich™）+ 2% 甲醇（Alfa Aesar™），（全部 v/v）+ 0.01%（w/v）APDC-吡咯烷二硫代氨基甲酸铵（Sigma-Aldrich™）+ 内标混合溶液。APDC 是一种强效络合剂，可使金属元素在 TMAH 环境下保持稳定。

血液和血清标准样品同样用酸性稀释剂和基本稀释剂进行稀释，得到校准溶液。基体校准标准品由冻干的血液和血清组成，另外还添加了浓度已知的常见待测元素。该方法的优点是避免了必须采集合并的血液或血清样品进行基体匹配校准。

比较了通过酸性稀释液和基本稀释液进行样品制备，所得的结果，从而决定哪种方法可以得出最准确的结果。

仪器条件

所有的分析都是使用 SMARTintro™ 高通量/高基体进样系统，其他 NexION 2000 ICP-MS 参数见表 1。为了提高样品通量，流量控制模式为高通量阀和 1mL 定量环。载体溶液和清洗溶液与样品稀释液一样，但没有添加内标。

表 1. 仪器参数

参数	说明 / 值
进样速率	≈ 300 μL/ 分钟
雾化器	MEINHARD® C 型
雾室	玻璃旋流雾室
雾室温度	2 °C
射频功率	1600 W

为了获得最佳检出限，检测方法中使用了三种模式。表 2 为血液和血清分析中各元素的质量数和检测模式。在同一个方法文件中可以同时采用 3 种碰撞/反应气是 NexION 2000 系统的独特之处，全部待测元素的分析仅需一次进样，无须将其分为单独的组合，这可有效提升仪器使用的便利性和性能。

表 2. 待测元素与分析模式

样品类型	元素	质量数	分析模式	碰撞 / 反应气体
血液	Cr	52	DRC	NH ₃
	Mn	55	DRC	NH ₃
	Se	78	DRC	O ₂
	AsO	91	DRC	O ₂
	Cd	114	DRC	O ₂
	Hg	202	DRC	O ₂
	Tl	205	STD	---
	Pb	208	STD	---
血清	Cr	52	DRC	NH ₃
	Cu	63	KED	He
	Zn	66	KED	He
	Se	78	DRC	O ₂
	Cd	114	DRC	O ₂
	Hg	202	DRC	O ₂

结果和讨论

由于对血液或血清缺乏特定的要求和标准，所以各个实验室分析的元素各不相同：有些分析特定的元素组合，有些则分析单个元素（例如：血液中的 Pb）。因此本文选定的元素是血液和血清分析中具有代表性的元素（如表 2 所示）。

如前文提到的，NexION 2000 ICP-MS 可使用 DRC、KED 或标准模式，三路碰撞 / 反应气灵活切换，以获得最优化的分析条件。在 DRC 模式下，氦气是消除铬和锰中碳基和氯基干扰的最有效反应气体，可帮助用户获得 ppt 级检出限。另一方面，氧气是消除镉 (MoO⁺) 和汞 (WO⁺) 中金属氧化物干扰的最有效反应气体，还能为硒的分析排除 m/z 78 的多种干扰。过渡金属所受质谱干扰种类比较多，所以碰撞模式下的氦是排除干扰的最佳选择。对于没有多原子离子干扰的重金属元素，更适合采用标准模式。

由于多种元素在非暴露样品、正常水平样品中的浓度水平极低，所以第一步就是评估该方法的定量报告限 (RL)，RL= 方法检测限值 (MDL) × 5（业界惯用的倍数）。确定 MDL 的方法是：分析稀释液 7 次，用标准偏差乘以 50（将稀释因子考虑在内），如果置信区间为 99%¹ 则乘以 3.14。表 3 列出的是血液和血清中待测元素的 MDL 和 RL。在此水平下，分析的最大挑战是控制污染 / 本底，造成污染的原因有很多，包括（但不限于）试剂、实验室环境和样品制备。

表 3. 血液和血清中待测元素的 MDL 和 RL

		基本稀释液		酸性稀释液	
基体	元素	MDL (µg/L)	RL (µg/L)	MDL (µg/L)	RL (µg/L)
血液	Cr	0.068	0.340	0.053	0.265
	Mn	0.038	0.190	0.028	0.140
	Se	0.418	2.09	0.382	1.91
	AsO	0.153	0.765	0.131	0.655
	Cd	0.068	0.340	0.051	0.255
	Hg	0.065	0.195	0.055	0.275
	Tl	0.015	0.075	0.014	0.070
	Pb	0.066	0.330	0.045	0.225
血清	Cr	0.130	0.650	0.054	0.270
	Cu	0.292	1.46	0.155	1.91
	Zn	0.943	4.72	2.22	11.1
	Se	0.665	3.32	0.872	4.36
	Cd	0.029	0.145	0.068	0.340
	Hg	0.163	0.815	0.136	0.680

参考物质的分析结果验证了分析的准确性，结果列于表 4 至表 7，所有的回收率均介于标准值的 ±20% 以内，绝大多数介于 ±10% 以内或更低。

表 4. ClinChek® 血液标准物质的分析结果（三种水平）

水平 1		基本稀释液		酸性稀释液	
元素	标准值 (µg/L)	测定值 (µg/L)	回收率	测定值 (µg/L)	回收率
Cr	1.25	0.98	79%	1.00	80%
Mn	8.01	7.59	95%	7.50	94%
Se	76.7	73.1	95%	74.77	98%
As	5.25	5.24	100%	5.48	104%
Cd	1.19	1.03	87%	1.22	103%
Hg	1.44	1.27	88%	2.03	141%
Tl	0.84	0.87	104%	0.86	102%
Pb	59.1	57.5	97%	57.0	96%
水平 2		基本稀释液		酸性稀释液	
元素	标准值 (µg/L)	测定值 (µg/L)	回收率	测定值 (µg/L)	回收率
Cr	5.49	5.03	92%	4.77	87%
Mn	14.9	14.3	96%	13.7	92%
Se	126	120	95%	115	91%
As	10.1	9.74	97%	10.0	99%
Cd	2.93	2.88	98%	2.85	97%
Hg	6.47	7.23	112%	7.10	110%
Tl	4.24	4.11	97%	4.22	100%
Pb	228	221	97%	219	96%
水平 3		基本稀释液		酸性稀释液	
元素	标准值 (µg/L)	测定值 (µg/L)	回收率	测定值 (µg/L)	回收率
Cr	10.9	11.1	102%	9.41	86%
Mn	21.4	20.8	97%	21.2	99%
Se	169	165	98%	167	98%
As	19.4	19.0	98%	19.1	98%
Cd	6.40	6.24	97%	6.41	100%
Hg	12.1	13.6	112%	14.1	116%
Tl	8.55	9.32	109%	8.98	105%
Pb	446	445	100%	457	103%

表 5. UTAK® 血液标准物质的分析（三种水平）

水平 1		基本稀释液		酸性稀释液	
元素	标准值 (µg/L)	测定值 (µg/L)	回收率	测定值 (µg/L)	回收率
Cr	0.75	0.65	90%	0.77	106%
Mn	10.7	8.51	80%	8.57	80%
Se	118	112	95%	121	102%
As	13.8	12.3	89%	12.8	92%
Cd	0.58	0.49	85%	0.55	94%
Hg	6.47	6.59	102%	7.09	110%
Tl	3.68	3.38	92%	3.68	100%
Pb	22.2	23.5	106%	22.1	100%
水平 2		基本稀释液		酸性稀释液	
元素	标准值 (µg/L)	测定值 (µg/L)	回收率	测定值 (µg/L)	回收率
Cr	15.2	14.0	92%	14.2	93%
Mn	31.4	27.5	88%	27.7	88%
Se	210	199	95%	205	98%
As	29.2	24.8	85%	25.3	87%
Cd	5.10	4.79	94%	4.81	94%
Hg	14.9	14.2	96%	15.7	106%
Tl	12.2	11.2	92%	12.4	101%
Pb	407	405	100%	410	101%
水平 3		基本稀释液		酸性稀释液	
元素	标准值 (µg/L)	测定值 (µg/L)	回收率	测定值 (µg/L)	回收率
Cr	58.7	56.8	97%	53.5	91%
Mn	92.0	84.9	93%	86.0	93%
Se	579	556	96%	550	95%
As	90.3	80.1	92%	13.7	94%
Cd	14.5	13.4	92%	13.7	94%
Hg	51.1	51.8	101%	52.5	103%
Tl	47.8	44.7	94%	48.0	101%
Pb	604	605	100%	605	100%

表 6. ClinChek® 血清标准物质的分析（两种水平）

水平 1		基本稀释液		酸性稀释液	
元素	标准值 (µg/L)	测定值 (µg/L)	回收率	测定值 (µg/L)	回收率
Cr	3.88	3.99	103%	3.89	100%
Cu	801	786	98%	803	100%
Zn	1320	1284	97%	1335	101%
Se	66.1	65.9	100%	66.9	101%
Cd	2.28	2.19	96%	2.20	96%
Hg	1.54	1.80	117%	1.59	103%
水平 2		基本稀释液		酸性稀释液	
元素	标准值 (µg/L)	测定值 (µg/L)	回收率	测定值 (µg/L)	回收率
Cr	7.49	7.83	105%	7.38	99%
Cu	1340	1245	93%	1360	102%
Zn	2040	1859	91%	2071	102%
Se	105	95.9	91%	98.8	94%
Cd	4.54	4.16	92%	4.65	102%
Hg	9.60	8.96	93%	10.1	105%

表 7. UTAK® 血清标准物质的分析（两种水平）

水平 1		基本稀释液		酸性稀释液	
元素	标准值 (µg/L)	测定值 (µg/L)	回收率	测定值 (µg/L)	回收率
Cr	< RL	---	---	---	---
Cu	1080	1088	101%	1173	109%
Zn	660	658	100%	696	106%
Se	103	110	107%	109	106%
Cd	0.21	0.21	100%	0.21	100%
Hg	NC	---	---	---	---
水平 2		基本稀释液		酸性稀释液	
元素	标准值 (µg/L)	测定值 (µg/L)	回收率	测定值 (µg/L)	回收率
Cr	2.11	2.30	109%	2.28	108%
Cu	3060	3005	98%	3108	102%
Zn	2600	2480	95%	2566	99%
Se	282	302	107%	289	102%
Cd	9.30	8.92	96%	9.71	104%
Hg	---	---	---	---	---

RL = 定量报告限值

NC = 未检出

表 4 至表 7 列出了使用酸性稀释剂和基本稀释剂的分析结果。图 1 中的曲线图是在 ClinChek® 血清标准物质中使用两种方法的 % 回收率对比。结果表明：使用两种样品制备方法所得的回收率基本一致，证明使用何种方法具有很大的灵活性。

在确定了该方法的准确性以后，以 7 小时内分析合并加标血液样品（用酸性稀释液制备），以每 10 个样品为一组监测一个质控样，来评估该方法的稳定性。得出的曲线图见图 2，证明此方法具有较高的长期稳定性，信号漂移不明显，这是 NexION 2000 ICP-MS 的一大优点。

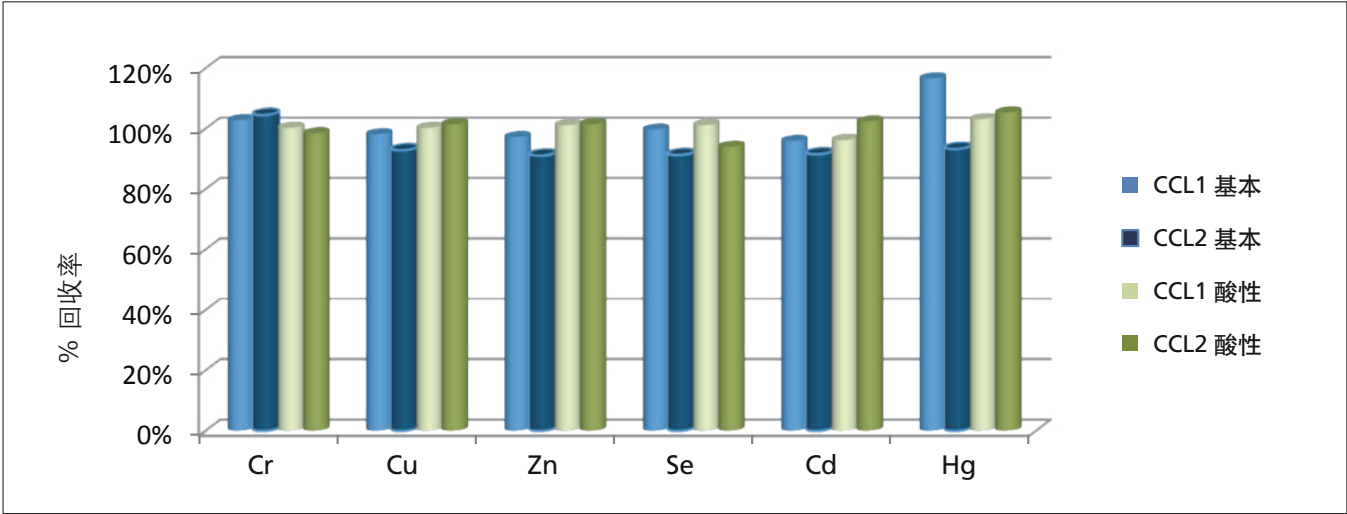


图 1. 采用基本稀释液（蓝色图）和酸性稀释液（绿色图）分析 ClinChek® 标准物质（水平 1 和水平 2）的回收率

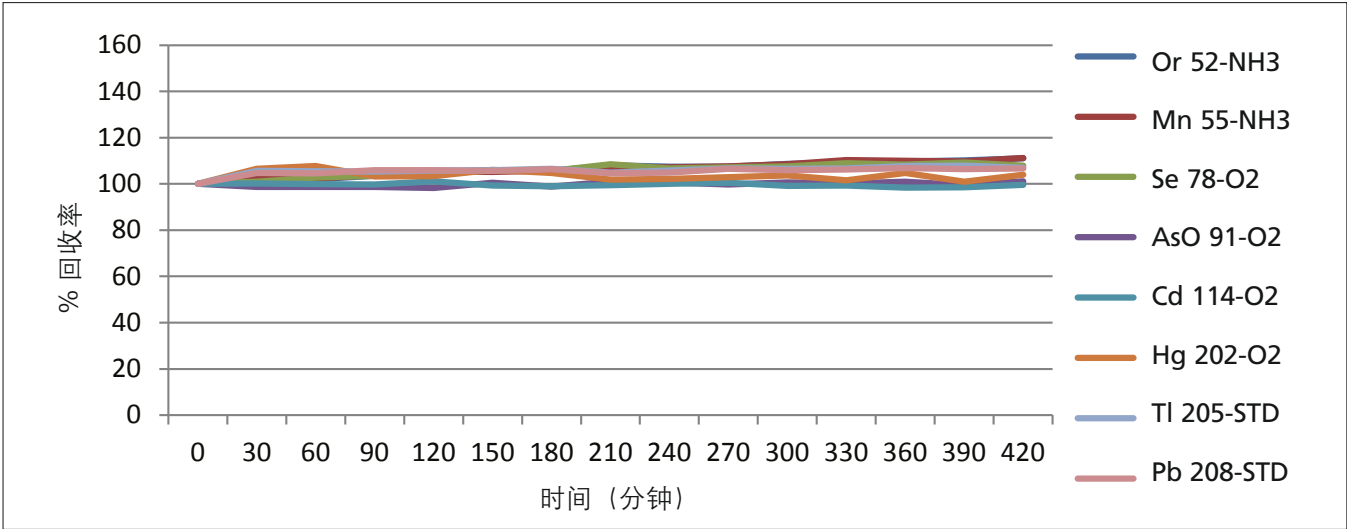


图 2. 以每 10 个样品为一组加一个质控样，分析血液样品的 7 小时信号稳定性

结论

本文证明 PerkinElmer NexION 2000 ICP-MS 可以对血液和血清样品进行准确、稳定的分析。可以使用基本稀释液或者酸性稀释液制备标准溶液和样品，都能获得准确的结果。得益于通用池技术和在单个方法中使用三种碰撞 / 反应气体技术，可以采用最适合的干扰消除方法消除干扰，确保实现优异的低浓度水平分析功能，有效降低仪器因素对检测结果偏差的影响。

参考文献

1. Definition and Procedure for the Determination of the Method Detection Limit – Revision 1.11”, 40 CFR, Part 136, Appendix B, Federal Register, 2016.

仅供研究使用。不得用于医学诊断。

珀金埃尔默企业管理（上海）有限公司
地址：上海张江高科技园区张衡路1670号
邮编：201203
电话：021-60645888
传真：021-60645999
www.perkinelmer.com.cn

要获取我们全球办公室的完整列表，请访问 www.perkinelmer.com/ContactUs

©2017, PerkinElmer, Inc. 版权所有。保留所有权利。PerkinElmer® 是 PerkinElmer, Inc. 的注册商标。所有其他商标均为其各自所有者的财产。所有解释权归PerkinElmer.

耗材

耗材	说明	货号
进样管 -1	橙色 / 白色 (内径: 0.64 mm) , 扩口, PVC, 12 只为一包	N8142501
进样管 -2	橙色 / 红色 (内径: 0.19 mm) , 扩口, PVC, 12 只为一包	N8145195
排液管	灰色 / 灰白色山都平 (内径: 1.30 mm) , 12 只为一包	N8145160



欲了解更多信息，
请扫描二维码关注我们的
微信公众账号