

测定血清中 21 种元素的前处理方法研究

目的:采用电感耦合等离子体质谱技术，测定血清中 21 种元素含量，重点优化血清中多元素测定的样品前处理方法。

方法:采用 1%硝酸，1% TritonX-100，0.01%吡咯二硫代氨基甲酸铵与 1%乙醇混合溶剂稀释血清样品 20 倍后，进入 ICP-MS 仪器检测 Mn、Co、Ni、Cd、La、Ce、W、Hg、Tl、Mo、Sb、Fe、Cu、Zn、Se、Al、As、Sr、Pb、Sn 和 Cr 21 种元素的含量。

结果:血清中 21 种元素在线性范围内线性良好 ($r > 0.995$)；检出限为 0.14 ~ 15.90 $\mu\text{g/L}$ 。方法用于孕妇血清样本检测，低高浓度 2 个水平的血清加标回收率为 82.2% ~ 121.5%，相对标准偏差小于 10%。采集 639 名孕妇血清样本进行检测，21 种元素中除 Tl、W、La、Ce、Hg，其余元素均有检出。

结论:通过条件优化，采用混合溶剂稀释法联合 ICP-MS 对血清中 21 种金属元素分析，方法快速、简便、准确，适宜用于评估人体元素暴露水平。

目前发现的金属元素有 80 余种，人体中含有 60 余种，其中占人体总质量 0.01% 的微量元素有 20 余种如铁、铜、锌、钴、锰、铬、硒、镍、钼、锡等，虽然在人体内的含量较低，但它们是构成细胞结构必不可少的成分，在人体代谢和生理过程中发挥着重要作用；还有一些重金属元素不是生命活动所必须，且超过一定浓度都对人体有毒如镉、铅、砷、汞等。人体可通过食品、饮水、空气等摄入元素，为了准确高效的监测人体元素暴露水平，评估其健康效应，建立血清中多元素同时分析方法是必要的。

虽然目前多元素检测的方法已较成熟，在常用的原子吸收分光光度法、原子荧光光谱法、电感耦合等离子体原子发射光谱法和电感耦合等离子体质谱法 (inductively coupled plasma-mass spectrometry, ICP-MS) 中，ICP-MS 法的宽线性范围、高灵敏度和强抗干扰能力，使其在多元素分析中具有不可比拟的优势，应用范围越来越广，尤其在生物样品

检测中，ICP 炬焰的超高温，使得样品经简单处理也能获得满意的效果。不同的元素在体内的存在形态不同，溶出所需条件亦有差异，虽已有 ICP-MS 测定血清元素的诸多报道，但笔者在实验中发现，样品前处理的不同会带来极大的影响，要兼顾各元素分析，获得灵敏准确的结果尚属不易。因此本文通过重点优化血清样品前处理条件，选择 21 种常见金属元素进行 ICP-MS 分析，构建出一种快速、准确的检测方式，并用于孕妇血清样品的批量分析。

材料与方法

材料: 样品来源于临床检验样品，血样采集后进行血清分离，将血清分装并放入冻存盒中，于 - 80 °C 冰箱保存。

仪器: 电感耦合等离子体质谱仪(上海美析仪器有限公司)

标准品和试剂: 购自国家有色金属及电子材料分析测试中心的 21 种待测元素标准溶液⁵⁵

Mn、⁵⁹Co、⁶⁰Ni、¹¹¹Cd、¹³⁹La、¹⁴⁰Ce、¹⁸²W、²⁰¹Hg、²⁰⁴Tl、⁹⁶Mo、¹²²Sb、⁵⁶Fe、⁶⁴Cu、⁶⁶Zn、⁷⁸Se、²⁷Al、⁷⁵As、⁸⁸Sr、²⁰⁸Pb、¹¹⁸Sn 和 ⁵²Cr，浓度 1000 µg/mL。

5 种内标元素标准溶液: ⁴⁵Sc、⁷²Ge、¹¹⁵In、¹⁵⁹Tb 和 ²⁰⁹Bi，自国家有色金属及电子材料分析测试中心购入，浓度为 1 000 µg/mL。

硝酸 (BV-III 级)，购自北京化学试剂研究所。Triton X-100 (LR 级)，购自 Sigma-Aldrich 公司。乙醇和四甲基氢氧化铵均为分析纯。

实验方法

ICP-MS 仪器条件：通过自动调谐和优化，确定 ICP-MS 条件为：射频功率 1550 W，载气流速 1.05 L/min，采样深度 8.0 mm，雾化器泵速 0.10 rps，雾化室温度 2 °C，提取透镜 - 200.0 V；四级杆偏转电压 - 3.0 V；八级杆射频功率 150 V，能量歧视 5.0 V。各元素均选择 He 模式进行测定，八级杆碰撞池 He 气流速 1.0 L/min。

样品稀释剂配制：实验采用 1%硝酸（BV III级）溶液，1%TitonX-100 溶液，0.01%吡咯烷二硫代氨基甲酸铵与 1%乙醇混合作为样品稀释剂。具体配制方法：以配制 1 000 mL 稀释剂为例，加入 硝酸 10 mL，曲拉通 X-100 0.5 g，吡咯烷二硫代氨基甲酸铵 0.10 g，乙醇 10 mL，用纯水溶解并定容至 1000 mL，充分混匀后置 4 °C保存。

标准溶液配制和标准曲线制定 参考 21 种 元素在血清中的浓度，分为 3 个浓度系列配制标准应用液，其中 Mn、Co、Ni、Cd、La、Ce、W、Hg、Tl、Mo 和 Sb 为同一系列浓度，元素应用液浓度为 40 µg/L；As、Sr、Pb、Sn、Cr 为同一系列浓度，元素应用液浓度为 100 µg/L；Fe、Cu、Zn、Se 和 Al 为同一系列浓度，元素应用液浓度为 1 000 µg/L。分别吸取混合标准应用液 0 µL、50 µL、100 µL、200 µL、500 µL、1 000 µL，定容至 10 mL，配制成标准系列浓度：Mn、Co、Ni、Cd、La、Ce、W、Hg、Tl、Mo 和 Sb 标准系列浓度为 0 µg/L、0.20 µg/L、0.40 µg/L、0.80 µg/L、2.00 µg/L、4.00 µg/L；As、Sr、Pb、Sn 和 Cr 标准系列浓度为 0 µg/L、0.50 µg/L、1.00 µg/L、2.00 µg/L、5.00 µg/L、10.00 µg/L；Fe、Cu、Zn、Se 和 Al 标准系列浓度为 0 µg/L、5.00 µg/L、10.00 µg/L、20.00 µg/L、50.00 µg/L、100.00 µg/L。

将上述标准系列溶液注入 ICP-MS 中进行分析，以各待测元素浓度为横坐标，各待测元素与相应内标元素的响应值比值为纵坐标，绘制标准曲线。选择与待测元素原子量接近的内标进行相应的校正。

方法学验证 从灵敏度（检出限）、精密度（相对标准偏差）和准确度（回收率）3 方面进行方法学验证，以考察方法性能，数据分析通过 Excel 2007 进行计算。通过平行测定混合血清 10 次，以测定值的 3 倍和 10 倍标准差对应的浓度计算检出限（LODs）和定量限（LOQs）；吸取混合血清样品 9 份，其中 3 份用于测定本底值，另取 6 份分别加入定量限和 2 倍定量限水平的标准溶液，在 1 日内重复测定 6 次和 6 日内重复测定

21 种元素的含量，计算测得值的相对标准偏差值 (RSDs) 和加标回收率。

样品分析 采集血样后分离血清，将血清分装于 0.5mL 离心管内，编号并放入冻存盒内，- 80 °C 冰箱保存。实验前取出于室温下解冻。吸取 100 μ L 血清样品于 5mL 塑料离心管中，加入稀释剂：1%硝酸 (BV III级) 溶液，1%TitonX-100 溶液，0.01%吡咯烷二硫代氨基甲酸铵与 1%乙醇直接稀释 20 倍，涡旋混匀，10 000 r/min 离心 2 min，取上清进样分析。质控血清以同样方式进行处理。

样品分析的质量控制 每批次上机前和每测 30 个样品后进行质控检测，包括程序空白、平行样和质控样品。程序空白实验是指前处理过程中，除不加样品外，其他步骤同 1.3 样品分析，用于监测整个实验分析阶段中待测元素的干扰，若在进样液中检出待测元素，则需排除原因后重新测定。平行样指对同一血样进行相同的处理和分析，2 次检测结果差值应不超过平均值的 10%，否则需排除原因后重新分析。ClinChek 微量元素质控样检测，测得值与标准值的相对偏差均在参考值范围内。

ICP-MS 测定模式选择 采用碰撞反应模式 (He) 和标准模式 (No gas) 考察了 ICP-MS 的测定模式，通过加标样品分析，各元素在 He 模式下的回收率均优于 No gas 模式，回收率在 80% ~ 120% 范围内。因此实验选择在 He 模式下进行测定。

样品前处理方式优化

直接稀释法与微波消解法的比较 ICP-MS 测定时常用的样品前处理方式有微波消解法和直接稀释法。消解法对有机物的消解能力强，能更有效降低样品的基质效应，但操作相对繁琐，消解过程中待测元素易受到污染和损失。ICP-MS 采用超高温的 ICP 炬焰，对物质进行离子化的同时，也可使样品基质高温下彻底灰化，因此一些液态样品经过简单的处理如稀释、过滤等，即可引入仪器进行元素测定。实验比较了直接稀释法和微波消解法的加标样品回收率，结果表明采用消解法，Al、Pb 等元素空白值偏高 ($> 2.0 \mu\text{g/L}$) 且相对标准

偏差大 (15% ~ 30%), 并且由于加热赶酸会造成 Hg 元素损失, 回收率偏低 (低于 70%); 直接稀释法的元素回收率均较为理想 (高于 80%), 空白可以得到有效控制。因此, 实验选择直接稀释法进行样品处理, 并进一步优化了稀释剂组合和稀释倍数。

稀释剂选择 稀释溶剂一般使用水和一定浓度的硝酸, 为了提高测定灵敏度, 可加入非离子性表面活性剂或有机试剂如曲拉通 X-100、乙醇, 以及金属络合剂如吡咯烷二硫代氨基甲酸铵, 同时防止未溶解的生物蛋白质堵塞 ICP-MS 雾化系统。与酸性稀释剂相比, 碱性稀释剂如四甲基氢氧化铵, 可减少酸度对 ICP-MS 的干扰, 又可以快速消除记忆效应。综上所述, 参考美国疾病预防控制中心测定标准 (DLS 3016.8. Blood Metals Panel 2 (BMP2) ICP-DRC-MS.) 和中国团体标准 (T/WSJD 19.1—2021, 全血中 23 种元素的电感耦合等离子体质谱法), 实验拟采用 1%硝酸溶液、0.05%Triton-100、0.01%吡咯烷二硫代氨基甲酸铵、1.0%, v/v 四甲基氢氧化铵、1%乙醇作为稀释溶剂, 并采取以下 4 种组合方式进行实验, 选取最优稀释剂组合。方法①: 四甲基氢氧化铵 (1.0%, v/v) + 曲拉通 X-100 (0.05%) + 吡咯烷二硫代氨基甲酸铵 (0.01%) + 乙醇 (1%, v/v); 方法②: 曲拉通 X-100 (0.05%) + 吡咯烷二硫代氨基甲酸铵 (0.01%) + 乙醇 (1%, v/v) (色谱纯为佳) + 硝酸 (1.0%, v/v); 方法③: 曲拉通 X100 (0.05%) + 硝酸 (1.0%, v/v) + 吡咯烷二硫代氨基甲酸铵 (0.01%); 方法④: 曲拉通 X-100 (0.05%) + 硝酸 (1.0%, v/v) + 乙醇 (1%, v/v)。

经过几种组合的比对, 实验结果显示, 硝酸的加入可以显著提高 Al、Ni 2 种元素的线性, 以及 Cu、Sn、La、Ce 的回收率 (从 < 60% 增至 > 75%), 说明这几种元素在硝酸介质中不易降解或沉淀损失, 更易溶出; 吡咯烷二硫代氨基甲酸铵加入可以显著提高 Sn、La、Ce 的回收率 (从 < 40% 增至 > 88%), 说明吡咯烷二硫代氨基甲酸铵可提高这几种元素的溶出; 乙醇的加入可使得 As 的回收率好转, 且能有效提高大多元素的响应值 (1.1 ~

1.5 倍);四甲基氢氧化铵的添加会造成 Al、Cu、La、Ce 等元素回收率下降,可能是碱性条件下容易发生沉淀造成损失,对其余各元素影响甚小。综合各元素回收率的情况,实验最终选取稀释剂组合为:1%硝酸,0.05%TritionX-100 溶液,0.01%吡咯二硫代氨基甲酸铵,1%乙醇。

稀释倍数 随机抽取 10 份血清样品混合,优化的稀释剂,在 10~30 倍范围内对稀释倍数进行了考察。由于血清粘度较大、基质较复杂,采用较低稀释倍数时,容易堵塞进样毛细管,对部分元素尤其是样品中低含量的元素分析产生干扰,使其测定的精密(>20%)和回收率较低(40%~60%),但稀释倍数太高又会导致一些元素分析灵敏度低。综合考虑回收率和灵敏度,实验最终选择血清样品稀释 20 倍,离心后进样分析。

讨论

检测模式和样品前处理方式 实验比较了 ICP-MS 在 2 种模式下(He 模式/No Gas 模式)各种元素的测定结果,考虑到元素的线性回归以及加标回收率,在前者模式下各种元素有更好的结果呈现,因此实验选择了在 He 模式下进行元素测定。这基于 He 模式可以有效消除多原子离子干扰,是 ICP-MS 测定的基本原理,在此不再赘述。实验重点考察了血清样品前处理方式,采用消解法与直接稀释法对血清样品进行前处理。与文献报道一致,消解法可以彻底的除去血清中的有机基质,取得良好的回收率,但挥发性元素的挥发损失、消解后的赶酸过程以及因赶酸不彻底带来的酸度干扰,均会使操作更为繁琐或降低方法的准确度。

仪器参数

ICP-MS6880 电感耦合等离子体质谱仪



产品介绍

电感耦合等离子体质谱仪（简称 ICP-MS），是 20 世纪 80 年代发展起来的一种新的微量、痕量和超痕量元素分析技术。ICP-MS 可测定元素周期表中大部分元素，且具有极低的检出限、极宽的动态线性范围、谱线简单、干扰少、精密度高、分析速度快等性能优势，上海美析仪器是国内较早开发 ICP-MS 的厂家，拥有国内最资深的 ICP-MS 研发团队，努力打造优质的 ICP-MS 产品。

ICP-MS6880 是自主研发产品，仪器各项性能均优于国家规范，完全满足不同行业用户应用需求，性价比高；而且具有卓越的仪器性能，高效的分析效果。仪器日常运行消耗器材成本低。

性能特点

◇集成气路模块，减少气路接头，轻量化、模块化，保障仪器便于移动工作

- ◇自主研发的固态电源可以保证仪器在多种模式（如常规模式、冷等离子体模式）下运行，并且在同一方法中允许运行多种模式，节约大量分析时间及方便研究。
- ◇采用主流化市场设计，为用户特别是第三方检测用户大大节省了仪器占用空间，也为未来实现车载应用，增加了可能性。
- ◇自动匹配功能卓越的固态光源，有效的限制了离子化过程中离子的扩散，保证了离子的聚焦性和极高的通过率。带偏转的离子光学系统保证了最佳的离子聚焦效果，有效的降低了背景噪声，提高了信噪比。
- ◇采用热电原装的一体式石英同心炬管，避免拆卸式炬管的繁琐操作以及可能由此导致的损坏；
- ◇仪器配置了灵敏度极高的光纤传感器，可在仪器工作状态下，实时监测火焰的工作情况，如遇异常熄火情况，可自动关闭仪器。
- ◇雾室与旋流雾室的分体式设计，较少了燃烧室内温度变化带来的雾化效率的影响，更加直观的观测实时的进样状态。配合专利技术的加长型雾室，有效进行气液分离，较少水蒸气的干扰。
- ◇仪器工作中的等离子气、辅助气、载气全部采用高精度的进口质量流量控制器（MFC）来控制，具有流量连续可调、输出气流的精度高，保证了测试数据的准确性。
- ◇蠕动泵为十二转子四通道全自动设计，蠕动泵转速可根据需求流量设置调节；可满足客户在线样品稀释和在线添加内标的特殊使用要求。
- ◇接口室由采样锥、截取锥两部分组成。标准配置包含采样锥（锥孔 1.1mm），和具有优秀耐盐性能的截取锥（锥孔 0.75mm）；另可根据用户实际需求选配高灵敏度截取锥；
- ◇中英文快速切换软件界面，“一键式”参数设置直观快捷，提高了用户的工作效率，也提供自动控制仪器及其附件的能力，完美适应 Windows 专业操作系统

◇美析仪器遍布全国的服务网络，我们 10 分钟响应、48 小时内上门服务、客服中心随时

跟踪服务、保证服务质量

技术指标

质量数量范围：2~260 amu

测量范围：≥109

灵敏度：Li≥50；In≥180；U≥200 (Mcps/ppm)

检出限：Li≤2；In ≤0.1；U≤0.1 (ppt)

分辨率：0.2~2.0amu

信噪比：≥50×10⁶

背景噪音：≤2 cps (全质量范围)

质量轴稳定性：≤0.05 amu/24 h

稳定性 RSD：短期≤2%；长期≤3%

氧化物离子：CeO⁺/Ce⁺≤2.5%

双价离子：69Ba²⁺/138Ba⁺ ≤3%

同位素比：(¹⁰⁷Ag/¹⁰⁹Ag) ≤0.2%

丰度灵敏度：≤1×10⁻⁶ 低质量端；≤5×10⁻⁷ 高质量端

应用领域

高校、质检中心、环境监测站、企业、农业系统、地质地矿、环境保护、地质冶金、电子

电器、食品安全、化工制药等。