

八级杆反应池 ICP-MS 快速可靠的尿液常规分析方法

应用

临床

作者

Peter Heitland
Medical Laboratory Bremen, Haferwende 12
D-28357 Bremen
Germany

Ed McCurdy
Agilent Technologies
Lakeside, Cheadle Royal Business Park
Stockport
United Kingdom

摘要

使用安捷伦 7500c 电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS) 快速可靠地测定尿液中 23 个痕量元素。介绍了所有元素的全部方法验证工作, 包括短期和长期稳定性评价, 不同参考物质分析以及内部和外部质量保证中的精密度和准确度讨论。尿液样品用 1% (v/v) 硝酸按 1/5 (v/v) 稀释后直接测定。采用这种简单的样品制备方法, 一个操作人员用不了 1 小时就可以制备 100 个样品。配备有八级杆碰撞/反应池的 ICP-MS 可以同时测定所有 23 个元素, 包括一般浓度范围的基本元素或职业暴露和环境卫生相应浓度水平的元素。

引言

通常采用人体易于采集的液体 (尿液、血液和血清、血浆) 的分析来评估病人体内存在的生物活性元素的浓度。人体基本元素 (比如, Se, Mo, Co, Cu 和 Zn) 的浓度以及非基本元素, 包括有毒元素或致癌物 (比如, Be, Pb, Pt, Cd, U) 的浓度可以为 (职业) 暴露以及许多疾病提供有价值的信息和治疗建议。

从事此类样品中痕量金属元素分析的许多实验室正在采用多元素分析技术, 比如碰撞/反应池电感耦合等离子体质谱仪 (ICP-MS) 来取代单元素分析技术, 比如石墨炉原子吸收 (GFAAS)。虽然以前也使用 ICP-MS 分析临床样品, 但现在新增加的八级杆反应池技术大大改善了一些临床上非常重要但存在基体重叠干扰的元素测量。

仪器

采用配置八级杆反应池系统 (ORS) 的 Agilent 7500c ICP-MS 进行方法建立研究和常规分析。反应池加入氦气或氢气以消除常规 ICP-MS 中存在的等离子体和基体对诸如 Cr, As 和 Se 的干扰问题。ORS 的设计使得 ICP-MS 得以实现对复杂多变基体中痕量级多元素的常规快速分析。



Agilent Technologies

7500c 用的是 Babington 雾化器和标准的石英 Scott 型双层雾化室。仪器用一个含有 ^7Li , ^{59}Co , ^{89}Y 和 ^{205}Tl ($10\ \mu\text{g/L}$) 的溶液最优化, 在整个质量范围内具有高灵敏度 (高信背比) 以及低干扰水平 ($\text{CeO}^+/\text{Ce}^+ < 1\%$ 和 $\text{Ce}^{2+}/\text{Ce}^+ < 3\%$)。碰撞/反应气体采用内置的软件程序最优化。

所有的仪器条件 (见表 1) 用 7500 系统的 ChemStation PC 控制, 包括所有气体 (四个等离子体气, 加上氦气和氢气反应气), 炬管位置以及样品引入参数, 比如样品流速和等离子体功率。全自动以及自动调谐系统的一个主要好处是可以选择“调谐目标”条件, 这些操作简单易于掌握。这大大简化了为了内部或外部审核目的而对系统性能的确证工作, 同时保证不同实验室中多个使用者在常规分析中的操作一致性。

仪器的其它细节在以前的发表物中已有介绍 [1, 2, 3]。

表 1. ICP-MS 操作条件

功率/W	1500
等离子体气流速 (L/min)	14
辅助气流速 (L/min)	1.0
雾化气流速 (L/min)	1.14
炬管注入管直径 (mm)	2.5
反应池氢气流速 (mL/min)	3.4
反应池氦气流速 (mL/min)	3.2
样品提升量 (mL/min)	0.4
每个质量积分时间 (s)	1.0
提取透镜电压 (V)	2
透镜 1, 3 电压 (V)	-160
透镜 2 电压 (V)	40
池入口电压 (V)	-36
池出口电压 (V)	-27
极偏压 (V)	-43

样品制备和校准

采集 24 小时期间的尿样于聚乙烯瓶中。样品容器在采样前用 5% (v/v) 超纯硝酸清洗。每 20 mL 样品用 100 μL 65 % (v/v) 的硝酸酸化后储存于冰箱中 5 °C。仪器采用标准加入法 (MSA) 校准。稀释因数是 5 mL 总体积中有 1 mL 尿样。7 个校准溶液中 Ba, Be, Co, Cd, Cr, In, Li, Mn, Mo, Pb, Pt, Rh, Sb, Sn, Tl, U, V 以及 W 的浓度分别是 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, 0.5, 2 $\mu\text{g/L}$ 。As, Se, Li, Cu 和 Zn 分别是 0, 0.1, 0.5, 1, 2, 5, 20 $\mu\text{g/L}$ 。Zn 还有两个较高浓度, 分别是 100 和 200 $\mu\text{g/L}$ 。所有样品和校准溶液中都加入 5 $\mu\text{g/L}$ Tb 为内标。选择 Tb 为内标元素是因为它是单同位素而且也没有来自氧化物或双电荷离子的干扰。

先将实际尿样剧烈摇晃, 然后取 1 mL 样品于 10-mL 的自动进样器的聚丙烯试管中, 加入 100 μL 浓硝酸进行酸化, 再加入 500 μL 内标溶液。将溶液去离子水稀释到 5 mL, 然后用磁力搅拌器将样品溶液搅拌均匀。该方法简单准确, 一个分析人员用不到 1 个小时可以制备 100 个样品。

用控制样品保证内部质量。控制样品的制备过程和以上介绍的实际样品一样, 将 1 mL 新鲜的控制溶液用硝酸、内标溶液以及去离子水稀释制备而成。

结果和讨论

实验表明, 尿样用去离子水和硝酸以 1/5 (v/v) 稀释后可以直接进行测定。在 12 个小时的测定期间, 没有发现雾化器堵塞或样品注入管有颗粒物沉积的现象。需指出的是, 7500c 的标准炬管的样品注入管的直径是 2.5 mm, 比其它 ICP-MS 仪器提供的可选件“高基体”炬管宽一些, 因此对基体耐受性更好一些。

按照 Boumans [4] 提出的检出限定义, 即 $LOD=3 RSD_b c/SBR$, 测定了本方法的检出限 $LODs$ 。 RSD_b 是背景强度 10 次测定的相对标准偏差, c 是溶液中元素的浓度, SBR 是信噪比。

未稀释的尿样的 $LODs$ 介于 0.4 ng/L (^{238}U) 到 143 ng/L (^{78}Se), 见表 2。基本痕量元素 Co, Cu, Zn, Se, Mo 的 $LODs$ 比健康人尿样中这些元素的正常范围低两个数量级。还有许多元素, 其 $LODs$ 主要受杂质的限制。因此, 仔细控制所有试剂中的杂质是非常重要的。

表 2. 分析性能: 重复性、短期和长期稳定性评价测量的 $LODs$ 和 $RSDs$

同位素	LOD (ng/L)	% RSD		
	未稀释的尿样	2 min, n=10	20 min, n=20	5 hours, n=60
7Li	6	0.8	2.7	4.5
9Be	4	1.5	4.2	3.9
^{52}Cr	16	1.7	3.1	4.6
^{51}V	16	2.4	3.4	4.1
^{55}Mn	21	3.0	3.1	3.6
^{59}Co	5	1.8	2.6	4.9
^{60}Ni	9	2.9	3.4	5.1
^{63}Cu	121	0.9	3.1	4.4
^{66}Zn	92	0.8	3.0	5.1
^{75}As	73	2.1	2.8	5.6
^{78}Se	143	2.4	3.7	6.2
^{98}Mo	27	1.8	2.8	5.4
^{103}Rh	0.6	1.2	3.3	4.8
^{111}Cd	8	2.4	3.2	3.9
^{115}In	4	0.5	3.0	3.7
^{118}Sn	19	1.6	3.2	5.8
^{121}Sb	6	1.1	2.6	5.3
^{138}Ba	8	1.5	2.8	4.1
^{184}W	7	0.9	2.2	4.6
^{195}Pt	3	0.7	1.9	3.8
^{205}Tl	3	0.6	2.1	2.3
^{208}Pb	2	0.7	2.3	2.5
^{238}U	0.4	1.2	2.2	3.2

通过对所有元素 ($c=5 \mu g/L$) 分别在 2 min (10 次测量) 和 20 min (20 次测量) 两个测量周期的质量强度的 $RSDs$ 研究了方法的重现性和短期稳定性。重现性的 $RSDs$ 范围是 0.6%–3.0%, 短期稳定性的 $RSDs$ 是 1.9%–4.2% (见表 2)。这些指标完全可以满足尿样分析要求。长期稳定性是对 5 个小时内每隔 5 分钟测量一次强度 (共测量 60 次) 进行统计的。 $RSDs$ 介于 2.5%–6.2% 范围。其中有些元素的长期稳定性很好, 比如 ^{208}Pb 和 ^{205}Tl (表 2)。所有长期稳定性的结果都没有使用内标。

干扰消除

为了避免出现表 3 描述的那些干扰, As, Ba, Co, Cd, Cu, V, Cr, Mn, Mo, Rh, Zn 采用氦为碰撞气进行测定。Se 采用的是氢反应气。实验发现氢气对于克服来自氩分子离子 ($^{40}Ar^{40}Ar^+$ 或 $^{38}Ar^{40}Ar^+$) 的干扰更好一些。加入氢气 (3.4 mL/min) 以达到最低背景相当浓度值 (BEC) 和降低 ^{80}Se 和 ^{78}Se 的背景强度的最佳折中条件。ORS 系统的一个好处就是它的最优化比较简单。在初始最优化后, 不需要再调节池气体流速, 在该模式操作时, 所有测量元素的氦气流速都是相同的。所有分析元素的池电压也是相同的。另外, ORS 排除了由于干扰而需要的校正公式, 改善了尿液这样的复杂基体的准确性。

表 3. ICP-MS 分析尿样的一些常见质谱干扰

离子	干扰离子
$^{51}V^+$	$^{35}Cl^{16}O^+$
$^{52}Cr^+$	$^{40}Ar^{12}C^+$, $^{35}Cl^{16}OH^+$
$^{53}Cr^+$	$^{37}Cl^{16}O^+$
$^{59}Co^+$	$^{43}Ca^{16}O^+$
$^{60}Ni^+$	$^{44}Ca^{16}O^+$, $^{23}Na^{37}Cl^+$
$^{63}Cu^+$	$^{40}Ar^{23}Na^+$
$^{66}Zn^+$	$^{32}S^{16}O^{18}O^+$
$^{75}As^+$	$^{40}Ar^{35}Cl^+$, $^{40}Ca^{35}Cl^+$
$^{78}Se^+$	$^{38}Ar^{40}Ar^+$
$^{80}Se^+$	$^{40}Ar^{40}Ar^+$, $^{79}BrH^+$
$^{82}Se^+$	$^{32}S^{16}O_3^+$
$^{95}Mo^+$	$^{79}Br^{16}O^+$
$^{98}Mo^+$	$^{81}Br^{16}OH^+$
$^{103}Rh^+$	$^{40}Ar^{63}Cu^+$
$^{111}Cd^+$	$^{95}Mo^{16}O^+$

质量保证

为了保证方法的内部质量控制，分析了几个来自不同供应商的控制样品和混合尿样，研究了方法的精密度和准确度。对两个控制样的所有元素进行了变异系数 (VCs) 的测量。日内 (Intra-day, 一次样品制备, 同一样品测量 10 次) 测量的 VCs 是 2.2%–5.4%。日间 (inter-day, 10 次样品制备, 不同人在不同天的 10 次测量) 的 VCs 是 6.0%–14.2%。对于临床样品中基本痕量元素以及有毒金属元素的分析, 这些指标通常都是可以接受的。

表 4, 5, 6 的数据是控制样品的测量浓度与标准浓度的比较。测量浓度是不同分析人员在不同天内对控制样品的 10 次测量值的平均结果。 \pm 值是 10 次测量的标准偏差。每个控制样的目标控制限是供应商设定的。分析值与目标控制限的比较表明, 大多数元素吻合的很好, 较低浓度的样品也没有明显的超出目标限的。但有少数几个元素不太一致, 比如 Lyphochek® level 1 中 Sb 的测量浓度值偏低, 而 Cr 测量值偏高。Clinchek® level 2 中 As 的结果偏低。由于这几个元素在其它的控制样品中获得了很好的回收结果, 所以这可能是推荐值不太准确, 有可能是杂质所致。

表 7 是对普通人群采集的 63 个尿样的分析结果。这些分析结果有力地证明了本方法的性能和适用性。表 7 的浓度没有做过肌氨酸酐调节, 所有对象的肌氨酸酐测量范围是 0.6–1.7 g/L, 几何平均值为 1.1 g/L, 是普通人的典型值。Pb, Co, Ba 和 Tl 的几何平均值与 2003 发表在 “American Second National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals” 的结果 [5] 非常吻合。基本痕量元素 Cu, Zn 和 Se 的浓度在 European Community [6] 描述的健康人正常浓度范围之内。我们测定的 Mo 的平均值 (45 $\mu\text{g/L}$) 与丹麦人 [7] 的测量值 43 $\mu\text{g/L}$ 接近。Li 的几何平均值 (18 $\mu\text{g/L}$) 与日本人的研究非常吻合 [8]。表 7 还附加提供了尿样中包括 Be, Cr, Ni 和 Cd 等其它元素的浓度范围。

表 4. 尿参考样 Lyphochek 的测量值和标准值的比较

元素	浓度 ($\mu\text{g/L}$)			
	Lyphochek, level 1		Lyphochek, level 2	
	测量值	标准值	测量值	标准值
Cr	1.7 \pm 0.2	1.2 \pm 0.2	18.6 \pm 2.6	20.2 \pm 4.1
Co	6.6 \pm 0.7	6.9 \pm 1.4	18.9 \pm 1.4	19.1 \pm 4.2
Cu	24 \pm 2.1	26.7 \pm 5.4	45 \pm 5.5	50 \pm 10
Se	56 \pm 5.3	49 \pm 10	192 \pm 17	187 \pm 37
As	65 \pm 6	67 \pm 14	162 \pm 15	163 \pm 33
Cd	8.4 \pm 1.1	8.6 \pm 1.7	14.9 \pm 1.9	15.6 \pm 3.1
Sb	6.9 \pm 1.1	9 \pm 1.8	34.8 \pm 4.4	36.9 \pm 7
Tl	9.6 \pm 0.8	9.7 \pm 2.0	185 \pm 17	198 \pm 40
Pb	13.5 \pm 1.1	14.3 \pm 2.9	68 \pm 5	69 \pm 14

表 5. 尿控制样 Clinchek 和 Medisafe™ 测量值和标准值的比较

元素	浓度 (µg/L)							
	Clinchek, level 1		Clinchek, level 2		Medisafe, level 1		Medisafe, level 2	
	测量值	标准值	测量值	标准值	测量值	标准值	测量值	标准值
Be	0.02±0.01	0.03±0.01	0.12±0.02	0.13±0.04				
V	17.2±1.5	17±5	41±3.6	45±9				
Cr	9.3±0.9	10±1.8	31±2.9	33±5	10±1.1	10±3	1.8±0.3	2±0.6
Mn	5.8±0.6	5.6±1.4	16±1.7	17±4				
Ni	10.2±1	9.8±2	45.7±3.2	44±8				
Co	5.0±0.3	5.4±1.1	33±2.1	33±6				
Cu	56±5	62±10	121±9	120±20				
Zn	225±31	250±40	567±65	620±75				
Se					23±3	20±6	205±28	200±50
As	30±3.3	31±8	61±7	72±16	57±7	50±11	248±30	250±60
Cd	8.3±1.2	8.4±1.4	15.1±1.2	15±3	11.6±1.4	13±3	7.2±0.9	8±1.8
Sn					4.5±0.6	5±1.2	45±6	50±12
Ba					5.4±0.6	5±1.7	56±7	50±18
Pb	29±2.5	28±6	72±9	64±11	133±11	130±32	85±7	80±18
Tl	3.1±0.3	3.2±0.9	15.9±1.3	17±5				

表 6. 库存尿控制样测量值和标准值的比较

元素	浓度 (µg/L)			
	库存尿样, level 1		库存尿样, level 2	
	测量值	标准值	测量值	标准值
Li	5.4±0.7	5±0.8	11±0.9	10±1.2
Be	0.5±0.07	0.5±0.08	0.9±0.1	1±0.1
In	0.5±0.1	0.5±0.07	1.1±0.13	1±0.07
Mo	1.1±0.13	1±0.13	5.3±0.4	5±0.26
Rh	0.5±0.11	0.5±0.1	0.9±0.08	1±0.08
W	0.6±0.1	0.5±0.12	0.9±0.14	1±0.1
Pt	0.4±0.11	0.5±0.1	0.9±0.1	1±0.08
U	0.5±0.1	0.5±0.07	1.1±0.06	1±0.05

表 7. 63 个尿样的分析结果

元素	Range (µg/L)	*几何平均 (µg/L)	95 % (µg/L)
Li	3-86	14	47
Be	LOQ-0.028	0.007	0.02
V	LOQ-0.19	0.037	0.13
Cr	LOQ-0.47	0.11	0.44
Mn	LOQ-0.52	0.049	0.14
Co	0.03-2.1	0.11	0.98
Ni	LOQ-3.5	0.37	1.5
Cu	1.3-10.8	4.7	8.3
Zn	19-665	139	305
As	0.5-197	14	149
Se	1-140	15	90
Mo	10-174	38	91
Rh	LOQ-0.004	0.002	0.003
Cd	LOQ-0.35	0.075	0.43
In	LOQ-0.8	0.039	0.43
Sn	0.06-12.6	0.8	5.5
Sb	LOQ-1.3	0.037	0.18
Ba	0.4-5.1	1.3	3.3
W	LOQ-0.19	0.012	0.08
Pt	LOQ-0.026	0.005	0.008
Tl	0.005-0.11	0.1	0.19
Pb	0.1-0.24	0.52	0.76
U	LOQ-0.024	0.0014	0.01

* 浓度低于 LOQ 的按 LOQ/2 计算

结论

基于 Agilent 7500c ORS ICP-MS 的方法成功地用于尿样的常规分析。该方法特别适合于那些需要多元素检测和元素筛查的大量样品的分析实验室。由于采用 ORS 消除了质谱干扰，检出限完全满足分析要求，仪器长期稳定性成为可靠的常规分析最重要的标准之一。长期稳定性源于 ICP-MS 的强劲性能和它对高基体样品的连续分析的耐受性。7500c 系统的设计（低雾化器流速、尤其是较宽直径的炬管注入管以及高等离子体温度）和最优化（基体氧化物调到最小）为其提供了所需要的基体耐受性。结合快速简单的样品制备方法，为常规临床实验室尿样的分析提供了快速准确的方法。

参考文献

1. E. McCurdy and G. Woods, (2004) *J. Anal. At. Spectrom.*, **19**, 607-615.
2. P. Leonhard, R. Pepelnik, A. Prange, N. Yamada and T. Yamada, (2002) *J. Anal. At. Spectrom.*, **17**, 189-196.
3. R. R. de la Flor St. Remy, M. L. Fernández Sánchez, J. B. López Sastre and A. Sanz-Medel, (2004) *J. Anal. At. Spectrom.*, **19**, 616-622.
4. P. W. J. M. Boumans, (1991) *Spectrochim. Acta*, **46B**, 641-665.
5. Second National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, National Center for Environmental Health Division of Laboratory Sciences, Atlanta, Georgia, 2003.
6. C. Minoia, E. Sabbioni, P. Apostoli, R. Pietra, L. Pozzoli, M. Gallorini, et al (1990) *Sci. Total Environ.*, **95**, 89-105.
7. B. S. Iversen, C. Menne, M. A. White, J. Kristiansen, J. Molin Christensen and E. Sabbioni, (1998) *Analyst*, **123**, 81-85.
8. K. Iguchi, K. Usuda, K. Kono, T. Dote, H. Nishura, M. Shimahara, et al (1999) *J. Anal. Tox.*, **23**, 17-23.

更多信息

有关我们产品和服务的更多信息，访问以下网址：
www.agilent.com/chem/cn。

作者 e-mail: Peter.Heitland@mlhb.de

致谢

Lyphocheck® 是 Bio-Rad Laboratories 的注册商标。

Clinchek® 是 IRIS Technologies 的注册商标。

Medisafe™ 是 FUTUREMED Health Products, Inc 的注册商标。

安捷伦科技公司对本材料中可能有的错误或装置、性能及材料使用有关内容而带来的意外伤害和问题不负任何责任。

本文的信息、说明和技术指标若有变更，恕不另行通知。

© 安捷伦科技公司，2005

中国印刷
2005 年 3 月 21 日
5989-2482CHCN