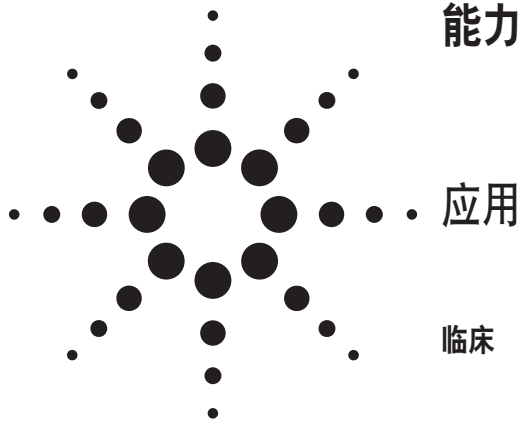


# 采用同位素稀释法的碰撞反应池 ICP-MS 为能力测试血清样品中的 Zn、Cu 和 Se 赋值



## 作者

Justine Turner, Linda Evans, and Ruth Hearn  
LGC, Queens Road  
Teddington, Middlesex, TW11 0LY  
UK

Andrew Taylor  
Royal Surrey County Hospital  
Guildford, Surrey, GU2 7XX  
UK

## 摘要

本工作采用安捷伦 7500ce 碰撞反应池(CRC) ICP-MS 的氦模式和氢模式测定了血清样品中的铜、硒和锌。采用高准确度的同位素稀释方法，在样品中按最优化的比例加入富集同位素溶液和校准标准溶液，并且同时测定。样品不需要消解，制备过程简单。给出了采用 ISO 和 Eurachem 计算得到的不确定度估算值。

## 引言

为了论证和监控实验室报出结果的准确度和精密度，许多分析部门建立了外部质量评价体系 (EQAS) (也称为能力测试体系)。该计划将样品分发到参加测试的实验室，然后将参照测试物的目标浓度对实验室的分析结果加以评价。这种能力测试活动可以由专业协

会、商业机构或一组具有共同兴趣的实验室来组织。他们可能只提供参与者的培训，或者作为特定分析任务的授权实验室的认可机构。参加 EQAS 计划的实验室必须通过多部门的实验室认证。

自从推出 EQAS 体系以来，组织者建立了一系列程序来确定测试物的目标浓度。ISO/IEC 导则 43 [1]介绍了几种赋值的方法，比如公式法、认证法、标准参考物质 (CRMs) 比对法、专业实验室合议、以及所有参与实验室的合议等。在 ISO/DIS 13528:2005 [2]中详细说明了按照这些程序以及它们的标准不确定度计算赋值的统计方法。该文件指出，采用合议方法确定的赋值的可靠性最差。然而，在实践中这种方法被普遍采用，因为对于没有 CRMs 的许多分析物而言，没有其它实用的方法可供选择。采用合议值的最大局限是缺乏溯源性，因此影响了对测量值的准确度和可比性的评价。

一份研究报告[3]报道了采用公式法、认证法以及专业实验室合议方法计算血样中铅的浓度，但该报道并没有对几种方法就其赋值和标准不确定度的计算进行系统的比较。职业与环境实验室医学[4]的 EQAS 组织了多个实验室以血样中的铜、硒和锌的测定为范例，提出了严格的赋值程序。作为该研究项目的一部分，LGC 实验室使用高准确度的同位素稀释技术 (ID-ICP-MS)，为三个 EQAS 血清样品中的铜、硒和锌提供了“认证”赋值。



## 实验

本文采用的同位素稀释技术是由 Henrion [5]提出、Catterick 等[6]改进的匹配性良好的修正版本, 该方法简单实用, 解决了与同位素比值测定相关的许多问题, 包括质量偏倚、检测器线性、死时间以及质谱干扰等问题。简而言之, 就是在样品中加入富集同位素溶液, 然后将其与一个和样品相匹配的用重量法制备的初级标准混合溶液同时进行测量。

### 样品制备

用下列富集同位素纯金属制备加标溶液:  $^{67}\text{Zn}$ , 富集到 93.11% (Oak Ridge National Laboratory, Tennessee, USA),  $^{65}\text{Cu}$  富集到 91.20% (AEA Technology, Oxfordshire, UK),  $^{77}\text{Se}$  富集到 68.69% (AEA Technology, Oxfordshire, UK). 每个加标溶液用高纯水 (18 M $\Omega$ , Elga- Maxima, UK) 配制的 1% w/w  $\text{HNO}_3$  (超纯酸, ROMIL, UK) 按称重法稀释, 使最终加入到血液样品的加标溶液含 456 ng/g Zn, 999 ng/g Cu, 和 58 ng/g Se。

将加标溶液加入到血清样品中 (0.5 g) 使  $^{66}\text{Zn}/^{67}\text{Zn}$ ,  $^{63}\text{Cu}/^{65}\text{Cu}$ ,  $^{77}\text{Se}/^{78}\text{Se}$  的比值为 1。根据样品中待分析物的浓度, 富集溶液从 0.2g 到 0.7g 不等。加标后的样品用高纯水配制的 1% w/w  $\text{HNO}_3$  稀释, 稀释后的样品含 25 ng/g 的 Cu 和 Zn, 2.5 ng/g 的 Se。

### 初级标准溶液

校验标准溶液和认证标准溶液, 用高纯水配制的 1% w/w  $\text{HNO}_3$  按称重法将 Zn (NIST SRM3168a)

稀释到 1992 ng/g, Cu (NIST SRM3115) 稀释到 1894 ng/g, Se (NIST SRM3149) 稀释到 199 ng/g。这些溶液加入相同的富集  $^{67}\text{Zn}$ ,  $^{65}\text{Cu}$ , 和  $^{77}\text{Se}$  溶液, 与样品混合液的比值相匹配。

### 质控物质

制备了三个质控混合液, 以验证样品测量结果。它们是 Seronorm (SERO AS, Billinstad, Norway) (血清中痕量元素, 水平 2), 含  $920 \pm 70$  ng/g Zn,  $2,600 \pm 200$  ng/g Cu,  $136 \pm 9$  ng/g Se。国际测量评价计划- IMEP17 物质 1, 含  $1,043 \pm 22$  ng/g Zn,  $1,092 \pm 6.4$  ng/g Cu,  $79 \pm 2.7$  ng/g Se。用高纯金属或盐配制的标准质控混合溶液, 含 1,993 ng/g Zn, 1990 ng/g Cu, 200 ng/g Se。

### 仪器

本工作采用 Agilent 7500ce 配置碰撞反应池的电感耦合等离子体质谱仪 (CRC-ICP-MS), 在氦模式下测量 Cu 和 Zn, 在氢模式测量 Se。表 1 给出的是典型的操作条件。采用智能进样系统 (ISIS), 在样品分析和清洗期间将泵速设置为 0.1 rps, 以减少样品引入系统的负荷以及等离子体的基体成分。

炬管的内管内径 2.5-mm, 采用 ShieldTorch 系统。每种气体模式切换的稳定时间为 30s。每个血清样品制备三份混合溶液, 每个质控样品制备一份混合溶液。按照 Catterick [6] 详述的插入法, 在每个样品混合溶液测量前后各测量一次校准混合溶液。

表 1. 测量 Zn, Cu 和 Se 的仪器条件

	Zn 和 Cu	Se
入射功率 (W)	1500	
载气 (L/min)	0.91	
补充气 (L/min)	0.25	
雾化器	Glass concentric 玻璃同心雾化气, MicroMist	
雾室	石英冷却到 2 °C	
锥	Ni	
池气体	He	H <sub>2</sub>
池气体流速 (mL/min)	3.1	3.6
Extract 1 (V)	2.3	
KED	2V	
每峰点数	3	
重复次数	10	
每个质量积分时间(s)	0.3	1.5

**同位素稀释法公式**

本工作采用的双匹配同位素稀释质谱法 (IDMS) 公式如下:

$$C'_X = C_Z \cdot \frac{m_Y}{m_X} \cdot \frac{m_{Zc}}{m_{Yc}} \cdot \frac{R_Y - R'_B \cdot \frac{R_{Bc}}{R'_{Bc}}}{R'_B \cdot \frac{R_{Bc}}{R'_{Bc}} - R_Z} \cdot \frac{R_{Bc} - R_Z}{R_Y - R_{Bc}} \quad \text{公式 1}$$

$C'_x$  测量得到的样品 X 中的分析物的质量分数

$C_Z$  初级标准溶液 Z 中分析物的质量分数

$m_Y$  加入到样品 X 制备混合液 B (= X + Y) 的稀释剂 Y 的质量

$m_X$  加入稀释剂 Y 制备混合液 B (= X + Y) 的样品 X 的质量

$m_{Zc}$  加入稀释剂 Y 制备校准混合液 Bc (Bc = Y + Z) 的初级标准溶液的质量

$m_{Yc}$  加入到初级标准溶液 Z 制备校准混合溶液 Bc 的稀释剂 Y 的质量

$R'_B$  样品混合溶液(X + Y)的同位素测量比值

$R'_{Bc}$  校准混合溶液 Bc 的同位素测量比值

$R_{Bc}$  校准混合溶液的同位素重量比值

$R_Z$  初级标准溶液 Z (IUPAC 值) 的同位素比值

$R_Y$  稀释物质 (证书值) 的同位素比值

每个同位素的峰强度 (每秒计数) 的原始数据输出到 Excel 并扣除相应的空白。然后复制到一个自定义的有效的 IDMS 电子表格中。电子表格通过峰强度计算同位素比值, 整合后进入公式 1。

## 结果和讨论

表 2 是三个血清样品（每个样品制备三份）的结果以及覆盖因子为 2 的扩展不确定度（置信度为 95 %）。不确定度的评价方法与 ISO/IEC 17025 [8] 以及测量不确定度指南（GUM/Eurachem）[9] 一致，考虑了公式 1 中的所有组成项。影响单次测量的不确定度的主要因素是样品和校准标准混合液( $R'_B$  和  $R'_{Bc}$ ) 的同位素比值测量的不确定度。为了计算这些不确定度的贡

献，必须获得每个被分析溶液的同位素比值的相对标准偏差。该相对标准偏差利用以前的文章中介绍[10] 的用工作站软件中的用户数据库就可以完成。不确定度估算值也包括三份样品混合溶液之间的标准偏差，该偏差是三个结果的平均标准偏差。

从表 2 可以看出，在三个样品的浓度范围内，每个分析元素的扩展不确定度相当，Zn 的不确定度估算值介于 1.5 - 4.9%，Cu 的不确定度估算值介于 1.0 - 1.2%，

表 2. 三个血清样品 L, M, 和 H 的 IDMS 结果

锌	样品 L	样品 M	样品 H
结果 1 ng/g	636	1488	1996
结果 2 ng/g	677	1515	2127
结果 3 ng/g	627	1511	2058
<b>平均浓度 ng/g</b>	<b>647</b>	<b>1505</b>	<b>2060</b>
平均测量不确定度 ng/g	3.5	7.1	10.8
混合液之间的变异	15.5	8.4	37.9
综合标准不确定度 ng/g	15.9	10.9	39.4
扩展不确定度 ng/g (K = 2)	31.8	21.9	78.9
<b>扩展不确定度 %</b>	<b>4.9</b>	<b>1.5</b>	<b>3.8</b>
铜	样品 L	样品 M	样品 H
结果 1 ng/g	862	1360	1855
结果 2 ng/g	867	1364	1863
结果 3 ng/g	875	1372	1876
<b>平均浓度 ng/g</b>	<b>868</b>	<b>1365</b>	<b>1865</b>
平均测量不确定度 ng/g	3.9	6.1	9.3
混合液之间的变异	3.6	3.4	5.9
综合标准不确定度 ng/g	5.3	7.0	11.0
扩展不确定度 ng/g	10.5	13.9	22.0
<b>扩展不确定度 %</b>	<b>1.2</b>	<b>1.0</b>	<b>1.2</b>
硒	样品 L	样品 M	样品 H
结果 1 ng/g	59.0	122	252
结果 2 ng/g	60.7	121	255
结果 3 ng/g	59.1	122	246
<b>平均浓度 ng/g</b>	<b>59.6</b>	<b>122</b>	<b>251</b>
平均测量不确定度 ng/g	0.9	2.0	3.5
混合液之间的变异	0.5	0.5	2.9
综合标准不确定度 ng/g	1.1	2.1	4.5
扩展不确定度 ng/g	2.1	4.2	9.0
<b>扩展不确定度 %</b>	<b>3.5</b>	<b>3.4</b>	<b>3.6</b>

表 3. 数据和 EQAS 会议值的比较

锌	样品 L	样品 M	样品 H
结果 ng/g	647	1505	2060
预期值 ng/g	650	1511	2032
% 回收率	100%	100%	101%
铜			
结果 ng/g	868	1365	1865
预期值 ng/g	881	1361	1861
% 回收率	99%	100%	100%
硒			
结果 ng/g	59.6	122	251
预期值 ng/g	58.4	121	246
% 回收率	102%	101%	102%

Se 的不确定度估算值介于 3.4 - 3.6%。结果也与 EQAS 组织者提供的平均值（剔除了离群值后的参加者的平均值）吻合的很好，详见表 3。

每个质控样的回收率结果都非常好，大部分结果在认证/预期值的  $100 \pm 5\%$  之内。标准的质量控制混合液中的 Zn 以及 Seronorm 中的 Se 例外，二者的回收率是 111%，Seronorm 的 Zn 的回收率高达 134%。Seronorm CRM 中 Zn 的高回收率可能是空白的 Zn 信号强度重现性较差造成的。图 1 是回收率的图示结果。

## 结论

本文详细介绍了一个准确性高的测量血清样品中 Zn、Cu 和 Se 的方法。通过应用氦气模式和氢气模式，可以同时测定同一个样品中的三个元素。这三个血清样品将被 EQAS 组织者作为二级参考物质，并作为新的测试标准发送，这将有助于改进参与者分析的样品之间的可溯源性。LGC 打算在近期将该方法用于一个新的血清 CRM 的认证中。

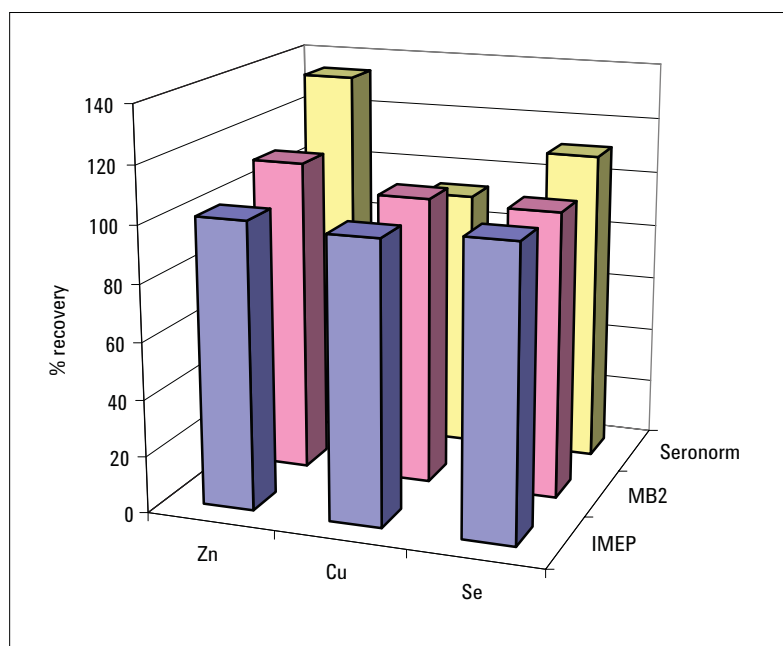


图 1. 三个质控，Seronorm，IMEP，标准质控混合溶液的回收数据

## 参考文献

1. ISO/IEC Guide 43-1:1997, Proficiency testing by interlaboratory comparisons, Part 1: Development and operation of proficiency testing schemes.
2. ISO/DIS 13528:2005, Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons.
3. R. Braithwaite and A. Girling, *Fresenius Z. Anal Chem*, 1988, 332, 704.
4. A. Taylor, J. Angerer, J. Arnaud, F. Claeys, R. L. Jones, O. Mazarrasa, E. Mairiaux, A. Menditto, P. J. Parsons, M. Patriarca, A. Pineau, S. Valkonen, J-P Weber, C. Weykamp, *Accred Qual Assur* 2006; 11: 435-439
5. A. Henrion. *Fresenius J. Anal. Chem.*, 1994, 350, 657.
6. T. Catterick, B. Fairman, C. J. Harrington. *J. Anal. At. Spectrom.* 1998, 13, 1109.

[www.agilent.com/chem/cn](http://www.agilent.com/chem/cn)

7. Institute for Reference Materials and Measurements 2003. International Measurement Evaluation Programme IMEP-17. Trace and minor constituents in human serum. EUR 20657. Reports Part 1, 2 and 3.
8. ISO/IEC 17025:2005. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
9. Eurachem, Quantifying uncertainty in analytical measurement. Laboratory of the Government Chemist. London 1995 (ISBN 0-948926-08).
10. J. Turner, *Agilent ICP-MS Journal*, 2007, **30**, 6. Publication number: 5989-6273EN

## 更多信息

有关我们产品和服务的更多信息, 请访问我们的网站:  
[www.agilent.com/chem/icpms:cn](http://www.agilent.com/chem/icpms:cn).

安捷伦对本资料中出现的错误, 以及由于提供或使用本资料所造成的相关损失不承担责任。  
本资料中涉及的信息、说明和规格, 如有变更, 恕不另行通知

© 安捷伦科技公司, 2007 年

2007 年 10 月 16 日中国印刷  
5989-7429CHCN



**Agilent Technologies**