

通过 ICP-MS 和微流自动进样系统 进行单细胞和微塑料分析

使用 Agilent 8900 ICP-MS/MS 对酵母细胞和
聚苯乙烯微球进行多元素分析



前言

单细胞 ICP-MS (scICP-MS) 法逐渐成为单细胞中元素测定的一种强大而快速的工具，这主要归功于 ICP-MS 的高灵敏度和高选择性(1)。分析方法与单纳米颗粒 (spICP-MS) 分析方法相同，后者已成为一种成熟的纳米颗粒和常规颗粒分析技术(2)。

要实现成功的 scICP-MS 或 splICP-MS 分析，ICP-MS 必须在快速时间分辨分析 (TRA) 模式下运行。将含有细胞或颗粒的悬浮液通过雾化器直接引入 ICP，在那里进行分解、原子化和离子化。离子团在 1 ms 内实现检测，比传统 ICP-MS 检测所用的信号积分时间 (10–100 ms) 更短。为了测量单细胞或单颗粒信号，安捷伦单四极杆 ICP-MS 或安捷伦串联四极杆 ICP-MS (ICP-MS/MS) 的快速 TRA 模式采用 0.1 ms 的积分时间。

scICP-MS 研究需要专用的 ICP-MS 进样系统，因为常规的 ICP-MS 进样系统不适合用于检测细胞。因为细胞在雾化过程中不能分解，并且雾化室需要具备高传输效率，以处理细胞等较大的颗粒。为了克服这些挑战，针对 scICP-MS 检测使用专门设计的雾化器和雾化室。

为了更好地了解塑料污染对生态系统和人类健康的影响，人们越来越关注环境和食品样品中微塑料 (MPs) 粒径、颗粒数量、浓度和元素含量的表征。由于 MPs 的粒径相对较大 (μm 至 mm 量级)，因此通过 ICP-MS 分析 MPs 还需要非常规进样系统将颗粒传输至等离子体中。

仪器

使用 ESI microFAST 单细胞 (sc) 自动进样器 (Elemental Scientific Inc., Omaha, NE, USA) 将含有细胞和 MPs 的样品进样至 Agilent 8900 ICP-MS/MS 仪器。microFAST 是由自动进样器、CytoNeb 雾化器、CytoSpray 雾化室和一体式炬管组成的完整系统。专门设计的雾化器和雾化室可确保将大颗粒高效传输至 ICP，而 CytoNeb 的背压足够低，不会破坏细胞的完整性。ESI 微量进样系统还与 Agilent 7850 ICP-MS (配备快速 TRA) 和 Agilent 7900 ICP-MS 兼容。

将 ESI 微量进样系统与安捷伦 ICP-MS 或 ICP-MS/MS 结合使用的优势包括：

- 提供全自动微流进样技术，可轻松高效地分析单细胞或颗粒
- 安捷伦 ICP-MS 具有高灵敏度和宽动态范围，可检测不同粒径范围的细胞或颗粒
- 更短的 ICP-MS 驻留时间 (0.1 ms) 可确保更高的颗粒信号-离子 (噪声) 背景比 (S/N)
- 通过 Agilent ICP-MS MassHunter 软件中的安捷伦快速多元素纳米颗粒分析模块实现多元素分析
- 该专用软件有助于检测细胞或颗粒中不限数量的待测元素

ICP-MS 分析模式

通常情况下，在对细胞进行酸消解后，使用传统的“整体”ICP-MS 分析方法测定细胞中的金属。这种整体方法根据细胞裂解后多种细胞类型中的金属总量得出平均浓度结果，而不是单一类型完整细胞的金属含量。对于单一类型完整细胞的元素和金属纳米颗粒 (NP) 含量的测定，需要使用 scICP-MS 法。

传统的样品溶液 ICP-MS 分析、纳米颗粒 splICP-MS 分析和单细胞 scICP-MS 分析的机制如图 1 所示。溶解的待测元素离子会产生连续信号，而单颗粒或单细胞中的目标元素离子会产生采用快速 TRA 模式可以检测到的尖锐峰形信号。

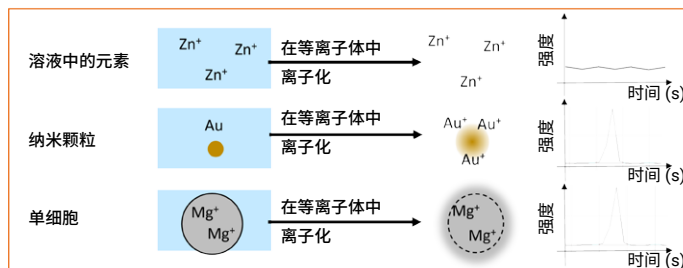


图 1. ICP-MS 检测离子溶液 (上图)、纳米颗粒 (中图) 和单细胞 (下图) 中金属离子含量的机制

使用 scICP-MS 分析酵母细胞

将市售干酵母和富硒酵母（硒-酵母）悬浮于去离子（DI）水中。使用 microFAST 单细胞自动进样器将样品进样至 8900 ICP-MS/MS 中。8900 配备 ESI 单细胞样品引入工具包。使用含有 50 nm 直径纳米颗粒的铂 (Pt) 纳米颗粒标准物质 (RM) 计算该方法的雾化效率。计算的雾化效率 > 80%，高于使用传统 ICP-MS 进样系统可实现的雾化效率 (5%–8%)。仪器的典型操作条件如表 1 所示。

表 1. 用于酵母细胞 scICP-MS 分析的 ESI microFAST 自动进样器和 Agilent 8900 ICP-MS/MS 的典型操作参数

ESI microFAST 单细胞自动进样器	
样品流速 (μL/min)	10
定量环规格 (μL)	100
雾化效率 (%)	> 80
Agilent 8900 ICP-MS/MS	
等离子体功率 (W)	1550
采样深度 (mm)	8
雾化气流量 (L/min)	0.63
补偿气流量 (L/min)	0.20

使用专用软件实现快速分析

对单细胞（或颗粒）进行多元素纳米颗粒分析所需的所有计算均可通过集成的快速多元素纳米颗粒分析软件模块完成。多元素模式包括在单纳米颗粒应用模块中，该模块是 ICP-MS MassHunter 软件的可选模块。

如图 2 所示，该软件能够在单次样品分析中连续采集数量不限的待测元素数据，且使用优化条件测定每种元素。与单元素 splCP-MS 分析相比，多元素纳米颗粒方法可缩短分析运行时间，并大幅降低样品交叉污染的风险。



图 2. 使用 Agilent ICP-MS MassHunter 软件的快速多元素纳米颗粒分析模块，采用多元素 splCP-MS 方法对样品进行序列分析

通过 scICP-MS 测定酵母和硒-酵母样品中的碳 (C)、磷 (P)、铁 (Fe) 和硒 (Se)。图 3 显示了两个样品中 Se 的 TRA 数据。只有硒-酵母显示了清晰的硒的信号峰。两种酵母样品中 C、P、Fe 和 Se 的信号分布图如图 4 所示。在酵母细胞中检测到了 C、P 和 Fe，而在硒-酵母样品的单个细胞中，所有四种元素均与背景信号明显区分。

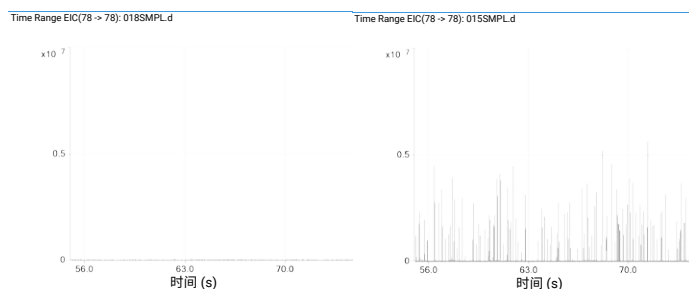


图 3. 用 scICP-MS 方法检测酵母（左图）和硒-酵母（右图）获得的 Se 信号

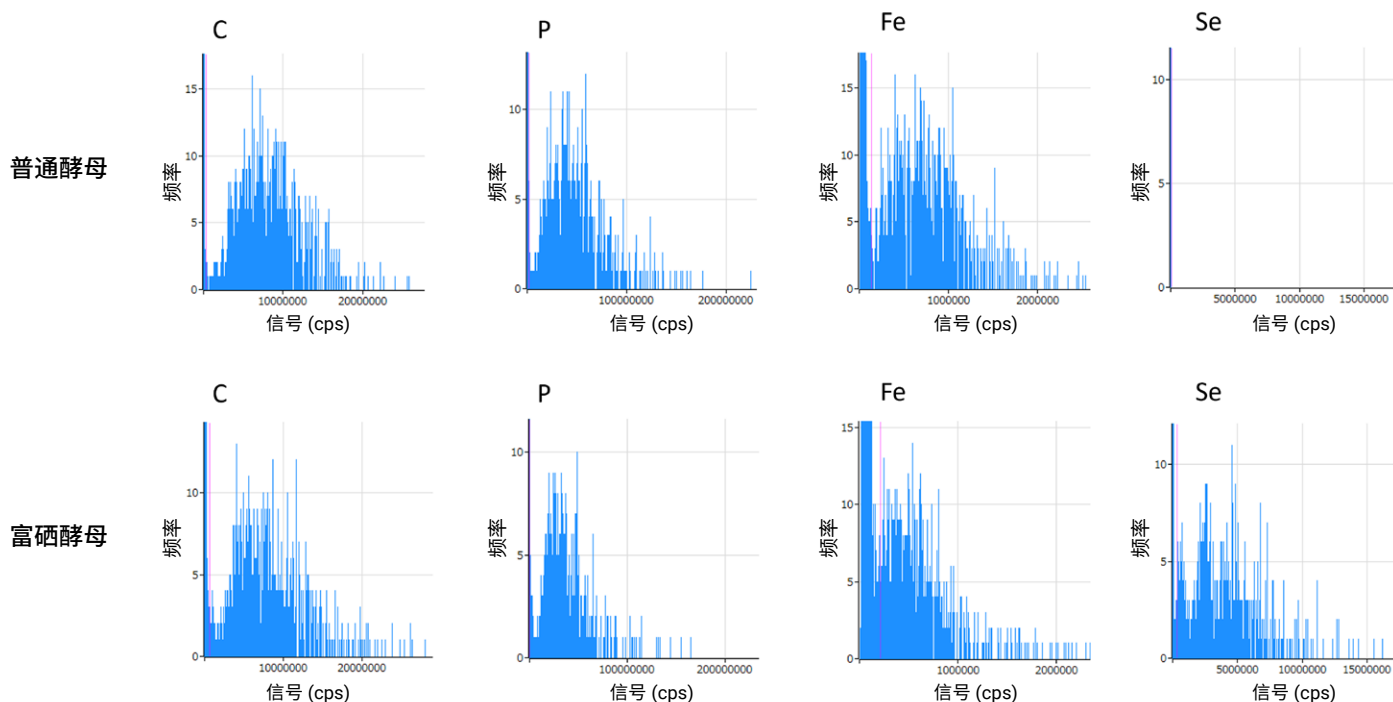


图 4. 酵母（上图）和硒-酵母（下图）中 C、P、Fe 和 Se 的信号分布

表 2 分别显示了在酵母和硒-酵母两个样品中检测到的含有四种元素的细胞数量。每种元素的测量时间为 20 s。检测到含有这四种元素的细胞数量非常一致，证实了 sclCP-MS 方法测量单细胞中多种元素的可行性。

表 2. 检测到含有 C、P、Fe 和 Se 的酵母和硒-酵母细胞数（每种元素测量 20 秒）

样品	检测到的细胞数			
	C	P	Fe	Se
酵母-1	1186	1022	1100	0
酵母-2	1096	937	1028	0
富硒酵母-1	1003	1183	1032	829
富硒酵母-2	1097	1234	1059	803

使用 spICP-MS 分析微塑料

通过 spICP-MS 研究 MPs 时，使用聚苯乙烯 (PS) 微球代表微塑料。1、2 和 5 μm 粒径的三种 PS 微球悬浮液购自 Sigma Aldrich (St. Louis, MI, USA)。用去离子水制备含有 1、2 和 5 μm PS 微球的混合溶液。将用于酵母 sclCP-MS 分析的仪器设置和操作参数（表 1）用于混合 PS 微球样品的测定。

PS 微球混合物中 ^{13}C 的粒径分布图见图 5。数据表明，1、2 和 5 μm PS 微球信号之间明显分离，证实了 spICP-MS 技术用于检测 MPs 元素含量的可行性。

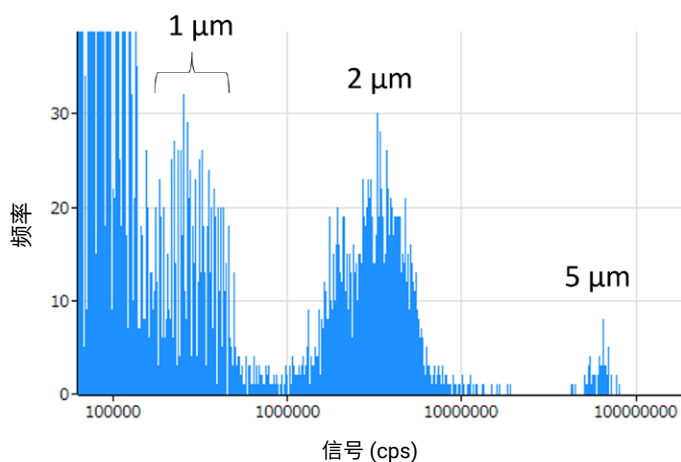


图 5. 含 1、2 和 5 μm PS 微球的混合样品中 ¹³C 的信号分布

用去离子水稀释 PS 悬浮液，平行制备三份含有 1、2 和 5 μm PS 微球的溶液，浓度分别为 0.1、1 和 5 ppm，然后使用 spICP-MS 分析 ¹³C。表 3 显示了在九种 PS 溶液中，在 20 s 测量时间内检测到的 MPs 数量、实测颗粒浓度，以及每种粒径 MP 的实测粒径中值。

在三份平行 PS 溶液中，每种粒径 MP 的实测颗粒浓度均具有良好的一致性，对于 2 和 5 μm PS 微球样品尤其如此。此外，实测粒径中值结果与 PS 微球的标称粒径一致。

结果表明，8900 ICP-MS/MS 方法结合 microFAST 自动进样器，可以有效地检测粒径低至 1 μm 的 MPs。8900 ICP-MS/MS 的检测能力是对更著名的激光红外成像 (LDIR) 技术的补充，后者的 MP 粒径下限约为 20 μm (3)。

另一项研究表明，8900 ICP-MS/MS 还可以通过测量 ¹²C 来检测 UPW 中个位数 ppb 水平的亚微米聚合物颗粒。但是，要检测和表征这种个位数 ppb 水平的小颗粒，需要严格控制进样系统、等离子体条件和碳背景(4)。

表 3. 通过 spICP-MS 在 1、2 和 5 μm PS 微球样品中检测到的 MPs 数量、实测颗粒浓度和粒径中值

聚苯乙烯样品	检测到的颗粒数	颗粒浓度 (颗粒数/L)	粒径中值 (μm)
1 μm 0.1 ppm-1	2366	4.3×10^8	0.95
1 μm 0.1 ppm-2	1616	2.9×10^8	1.04
1 μm 0.1 ppm-3	2100	3.8×10^8	0.97
2 μm 1 ppm-1	1733	3.1×10^8	1.9
2 μm 1 ppm-2	1763	3.2×10^8	1.9
2 μm 1 ppm-3	1947	3.5×10^8	1.9
5 μm 20 ppm-1	197	3.5×10^7	5.2
5 μm 20 ppm-2	181	3.3×10^7	5.1
5 μm 20 ppm-3	211	3.8×10^7	5.2

结论

ESI microFAST 单细胞自动进样器和进样系统与 Agilent 8900 ICP-MS/MS 无缝结合，为单细胞或微塑料 (MPs) 的元素分析提供了全自动解决方案。

由于安捷伦 ICP-MS 具有高灵敏度和宽动态范围，因此可以使用单细胞 (sc-) 或单颗粒 (sp-) ICP-MS 方法测量小粒径和大粒径细胞或颗粒的元素含量。本研究提供了测量单个酵母细胞中 C、P、Fe 和 Se 以及测定 1、2 和 5 μm 聚苯乙烯微球中 ¹³C 的性能验证数据。

Agilent ICP-MS MassHunter 软件中的纳米颗粒分析模块自动执行对单细胞或 MPs 进行多元素分析所需的所有计算，提供了一种完全集成的方法。

参考文献

1. Tanaka, Y., Ogra, Y., Kubota, T. 使用快速时间分辨分析 (TRA) ICP-MS 评估单细胞元素含量, 安捷伦出版物, [5994-4460ZHCN](#)
2. Resano, M., *et al.*, Living in a transient world: ICP-MS reinvented via time-resolved analysis for monitoring single events, *Chem. Sci.*, **2022**, 13, 4436
3. Alwan, W., Robey, D. 通过激光红外成像和用户生成的谱库表征环境样品中的微塑料, 安捷伦出版物, [5994-4822ZHCN](#)
4. Ching Heng, H. 使用 ICP-MS 检测微塑料。成功分析超纯水中亚微米颗粒的关键因素, 安捷伦出版物, [5994-6725ZHCN](#)

查找当地的安捷伦客户中心:

www.agilent.com/chem/contactus-cn

免费专线:

800-820-3278, 400-820-3278 (手机用户)

联系我们:

LSCA-China_800@agilent.com

在线询价:

www.agilent.com/chem/erfq-cn

www.agilent.com/chem/8900icp-qqq

DE92640755

本文中的信息、说明和指标如有变更, 恕不另行通知。