thermo scientific

AN 43283_C_ICPMS__201703Y

Thermo Scientific iCAP TQ ICP-MS 用于临床研究的全元素分析

作者

Tomoko Vincent，应用工程师

Thermo Fisher Scientific，布来梅，德国

关键词

临床研究，同量异位素干扰，血清，钛，痕量元素分析，尿液

引言

生物样品中的痕量元素分析为临床研究和法医毒理研究提供了重要支撑依据。临床研究领域中痕量元素分析的一个引人关注的例子是探索人体中钛基人工骨和牙种植体的降解。随着最近对二氧化钛潜在致癌性的研究，人体内钛的最终去向受到越来越多临床研究的重视。因此需要建立稳健的分析方法，以满足不同生物样品比如人体体液和组织中钛的定性和定量分析的需求。

但是建立生物样品中的全元素分析方法是具有挑战性的，因为钛在这些类型样品中的含量低，且单四极杆 ICP-MS 不能消除潜在的同量异位素干扰。

ICP-MS 技术的进步带来了三重四极杆（TQ）ICP-MS 仪器，既满足灵敏度的需求，也能够消除多原子干扰和同量异位素干扰。

本文重点介绍一种稳健的方法，采用 Thermo Scientific™ iCAP™ TQ ICP-MS 来分析人血清参考标准样品中的钛和其它痕量元素。

样品制备

取参考标准样品（Seronorm™ Trace Elements in Serum L-1 和 L-2，SERO，挪威）和一定体积人尿液置于清洗过（在 2% 的稀硝酸中浸泡 72 小时，然后用超纯水冲洗干净）的聚丙烯容器中，用稀硝酸（0.5% m/m Fisher Scientific）和四甲基氢氧化铵（TMAH，2% m/m SIGMA-ALDRICH）的水溶液（超纯水，18 MΩ cm）按照 10 倍重量比稀释。标准空白、系列标准溶液和一个质控（QC）样需经过相同的步骤，用单元素标准（SPEX CertiPrep）代替参考标准样品。表 1 列举了元素及最终浓度。所有的样品和标准均加入混合内标溶液（含 10 $\mu g \cdot L^{-1}$ Ge，Y，Rh，Te 和 Bi）

ThermoFisher SCIENTIFIC

表 1 标准和 QC 溶液中所分析元素及浓度

单位：mg·L^{-1}

	主量元素 标准 1	主量元素 标准 2	主量元素 标准 3	主量元素 标准 4	QC CCVs
Ca	5	10	25	50	10
Fe	0.1	0.2	0.5	1	0.2
Mg	5	10	25	50	10
P	5	10	25	50	10
K	5	10	25	50	10
S	50	250	500	1000	100
Na	50	100	250	500	100

单位：μg·L^{-1}

	痕量元素 标准 1	痕量元素 标准 2	痕量元素 标准 3	痕量元素 标准 4	QC CCVs
Sb	0.5	1	2.5	5	1
As	0.1	0.2	0.5	1	0.2
Ba	5	10	25	50	10
Cd	0.1	0.2	0.5	1	0.2
B	5	10	25	50	10
I	5	10	25	50	10
Pb	0.1	0.2	0.5	1	0.2
Li	500	1000	2500	5000	1000
Mo	0.1	0.2	0.5	1	0.2
Rb	0.5	1	2.5	5	1
Sr	5	10	25	50	10
Ti	0.5	1	2.5	5	1
U	0.005	0.01	0.025	0.05	0.01
V	0.1	0.2	0.5	1	0.2
Zn	50	100	250	500	100
Se	0.1	0.2	0.5	1	0.2
Al	50	100	250	500	100
Cr	0.5	1	2.5	5	1
Mn	5	10	25	50	10
Ni	5	10	25	50	10
Co	0.1	0.2	0.5	1	0.2

如果不需要特别的干扰去除，iCAP TQ ICP-MS 也可以设置为单四极杆分析模式。此分析模式下，对于大多数的元素来说，使用纯 He 作为碰撞气体，结合动能歧视（KED）模式已足够满足需求。

方法建立和分析

表 2 详细列举了样品采集参数。iCAP TQ ICP-MS 由 Thermo Scientific™ Qtegra™ 智能科学数据处理（ISDS）软件进行控制，通过自带的自动调谐步骤对仪器参数进行优化。

仪器

iCAP TQ ICP-MS 的三重四极杆改进了消除干扰的效果，本文将它与单四极杆（SQ）ICP-MS 进行比较。第一级四极杆（Q1）去除所有不需要的离子，比如可能在碰撞 / 反应池（CRC）中形成干扰的前级离子。

第二级四极杆（Q2）通过适当的反应气来选择性地改变干扰物或目标元素的质量数。

第三级四极杆（Q3）分离出产物离子，通过第二级的质量过滤器去除所有残留的干扰，实现无干扰分析。

在本分析方法中，采用 TQ mass shift 模式检测目标元素钛（见图 1）。在 Q2 阶段，钛与氨气（NH_3）反应生成 *m/z* 114 的（$^{48}Ti(NH_3)_3NH$）离子簇。

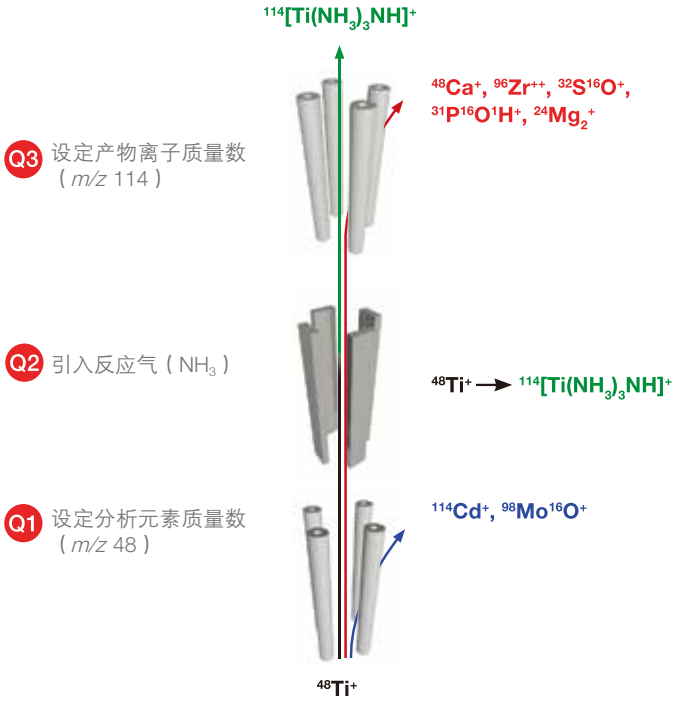

图 1. TQ mass shift 模式测定钛

表 2. 仪器配置和操作参数

参数	设定值	
雾化器	PFA 雾化器，0.2 mL•min^{-1}，泵速 40 rpm	
雾化室	石英旋流雾室，3 ℃	
矩管中心管	2.5 mm 内径，石英	
接口	高基体嵌片（3.5 mm），镍锥	
RF 功率	1550 W	
雾化气流量	1.001 L• min-1	
碰撞反应池设置	**SQ-KED**	**TQ-NH_3**
反应气流量	4.5 mL• min	0.29 mL• min-1
CR 偏压	-21 V	-7.9 V
Q3 偏压	-18 V	-11 V
驻留时间	每个目标元素驻留 0.2 s，5 次扫描	

Qtegra ISDS 软件的方法开发助手 Reaction Finder 能够自动为每个元素选择最佳模式。本文选用了多种分析模式测量钛，与 TQ mass shift 模式的消除干扰效果进行比较：

SQ-KED — 单四极杆模式，纯氦气作为碰撞气，应用动能歧视（KED），无 Q1 过滤，Q3 质量设置为 48

SQ-NH_3 — 单四极杆模式，纯 NH_3 作为反应气，无 Q1 过滤，Q3 产物离子质量设置为 114

TQ- NH_3 — 三重四极杆模式，纯 NH_3 作为反应气，Q1 质量设置为 48，Q3 产物离子质量设置为 114

每个元素基于质量数相近原则分配合适的内标元素，表 3 列举了各元素采用的测量模式和选定的内标元素。

样品分析首先进行外标曲线绘制，然后进行尿液和血清样品重复性分析。每测 10 个样品后进行连续校准验证（CCV）样品分析，总共测量了 124 个样品。所有样品均使用 Teledyne CETAC 公司 ASX-560 自动进样器进行自动进样，所用的样品间冲洗液与样品稀释液相同（0.5% HNO_3/2% TMAH）。

结果

由于 ^{48}Ti 元素受到 ^{48}Ca 的同量异位素重叠，还受到 SO^+、POH^+ 的多原子干扰，所以生物样品中的钛元素分析尤其具有挑战性。为评估消除干扰的效果，采用三种不同的测量模式（SQ-KED、SQ-NH_3 或 TQ-NH_3）来分析同一个参考标准样品（CRM）。表 4 列举了每种模式下，血清 L-1 和 L-2 两个样品中的钛测定浓度。TQ-NH_3 模式的测定结果与标准样品的参考值最为接近，因此 Reaction Finder 方法开发助手自动选择了这种模式来进行分析。

表 3. 各元素的测量模式和内标元素

	测量模式	分析物 / 产物质量数	内标元素
Na	SQ-KED	23	^{74}Ge
Mg	SQ-KED	24	^{74}Ge
P	SQ-KED	31	^{74}Ge
S	SQ-KED	34	^{74}Ge
K	SQ-KED	39	^{74}Ge
Ca	SQ-KED	44	^{74}Ge
Fe	SQ-KED	56	^{74}Ge
Li	SQ-KED	7	^{74}Ge
B	SQ-KED	11	^{74}Ge
Al	SQ-KED	27	^{74}Ge
V	SQ-KED	51	^{74}Ge
Cr	SQ-KED	52	^{74}Ge
Mn	SQ-KED	55	^{74}Ge
Co	SQ-KED	59	^{74}Ge
Ni	SQ-KED	60	^{89}Y
Zn	SQ-KED	66	^{74}Ge
As	SQ-KED	75	^{89}Y
Se	SQ-KED	78	^{74}Ge
Rb	SQ-KED	85	^{89}Y
Sr	SQ-KED	88	^{89}Y
Mo	SQ-KED	95	^{103}Rh
Cd	SQ-KED	111	^{103}Rh
Ti	TQ- NH3	114	$^{74}Ge^{14}N^{1}H_2$
Sb	SQ-KED	121	^{125}Te
I	SQ-KED	127	^{125}Te
Ba	SQ-KED	138	^{103}Rh
Pb	SQ-KED	208	^{209}Bi
U	SQ-KED	238	^{209}Bi

表 4. 采用不同模式测定血清 CRMs 中钛的结果对比

	Ti SQ-KED，μg·L^{-1}	Ti SQ- NH3，μg·L^{-1}	Ti TQ-NH_3，μg·L^{-1}	Ti 参考浓度，μg·L^{-1}
Serum L^{-1}	167	1800	6.64	6.8
Serum L^{-2}	262	1850	6.38	6.8

为了验证本方法对消除干扰的改进，研究了样品中镉对钛测定的影响。采用 TQ-NH_3 模式分析一个被稀释十倍的尿样和一个 10 mg·L^{-1} Cd 标液，并记录质谱图。可以看出，10 倍稀释的尿样产生了一个典型的 Ti（NH_3）3X+ 簇所对应指纹谱（图 2）。采用相同仪器参数和测量模式分析得到的 10 mg·L^{-1} Cd 标液所得谱图（图 3）中并未发现 Cd 质谱峰（仅有少量血清分析的残留信号），说明 Cd 被 Q1 消除掉，本方法能够防止样品中任何痕量 Cd 对 *m/z* 质荷比为 114 的 Ti 测定产生干扰。

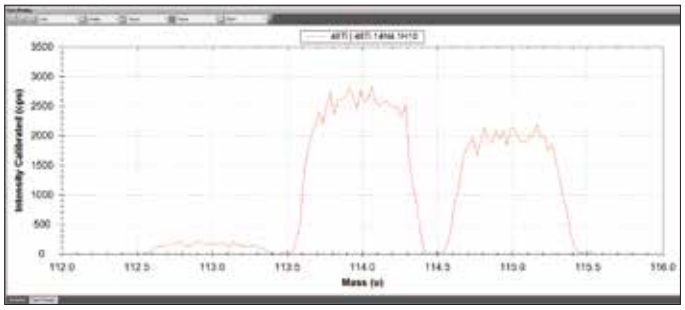

图 2. 尿样的质谱图（被稀释 10 倍）

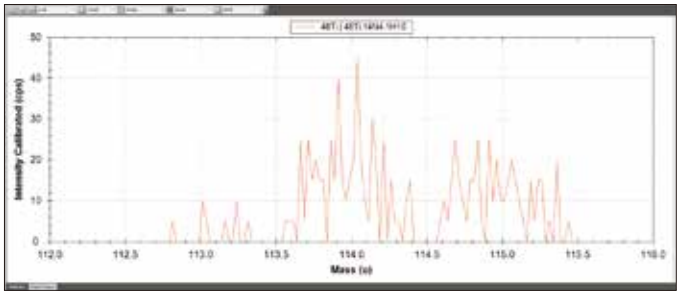

图 3. 10 mg•L-1 Cd 标液的质谱图

图 4- 图 7 显示了多元素分析方法获得的几种元素的标准曲线。图 4 为 TQ mass shift 模式分析钛的标准曲线，可见方法灵敏度高达 3903 cps/μg•L^{-1}，包括一个空白和四个标样（0、0.5、1、2.5 和 5 μg•L^{-1}）的标准曲线拟合线性良好，R^2 值为 0.9998。

除钛以外，所有其它元素均采用 SQ-KED 模式分析。在此模式下，首个四极杆仅作为一个离子传输向导。图 5 和图 6 分别为 SQ-KED 模式下砷和硒的标准曲线，标液浓度在 0.1-1μg•L^{-1} 范围。图 7 为硫的标准曲线，标液浓度在 50-1000 mg•L-1 范围。这些都是临床研究中关注的典型元素和典型浓度范围。

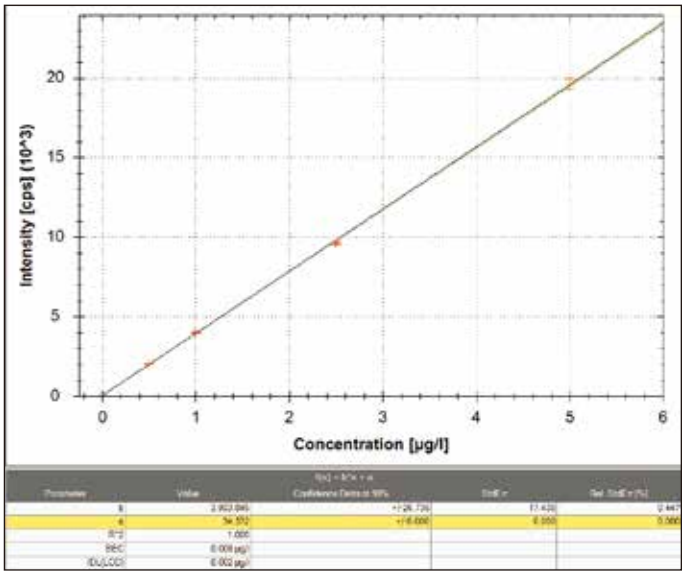

图 4. 钛的标准曲线

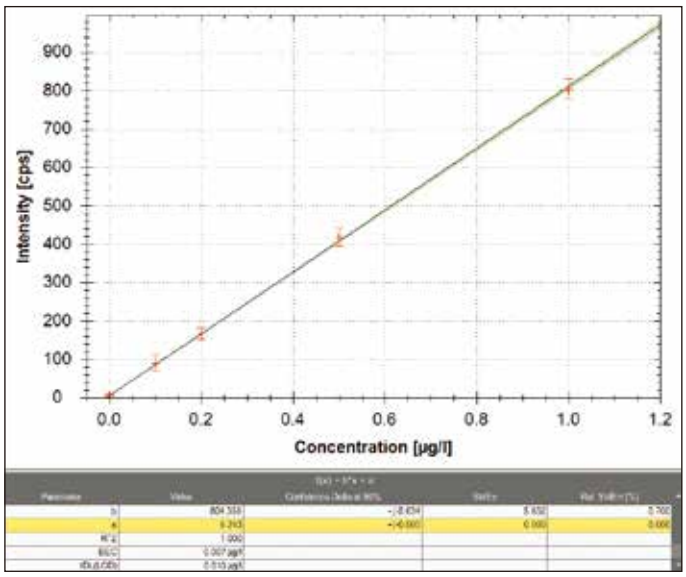

图 5. 砷的标准曲线

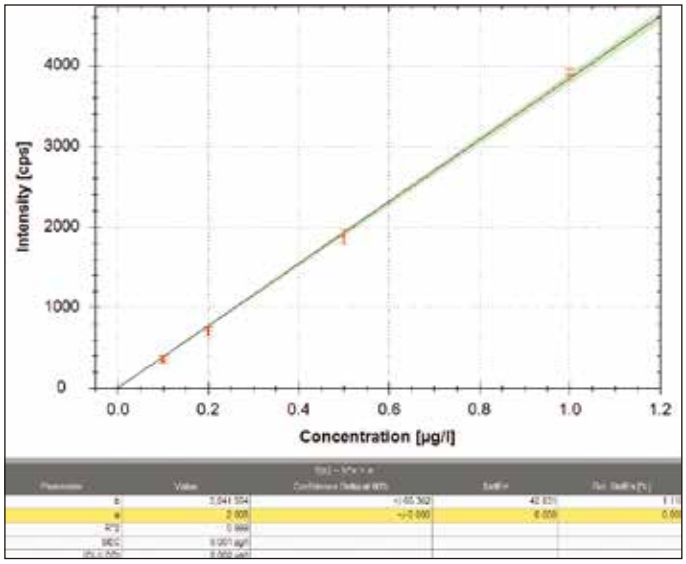

图 6. 硒的标准曲线

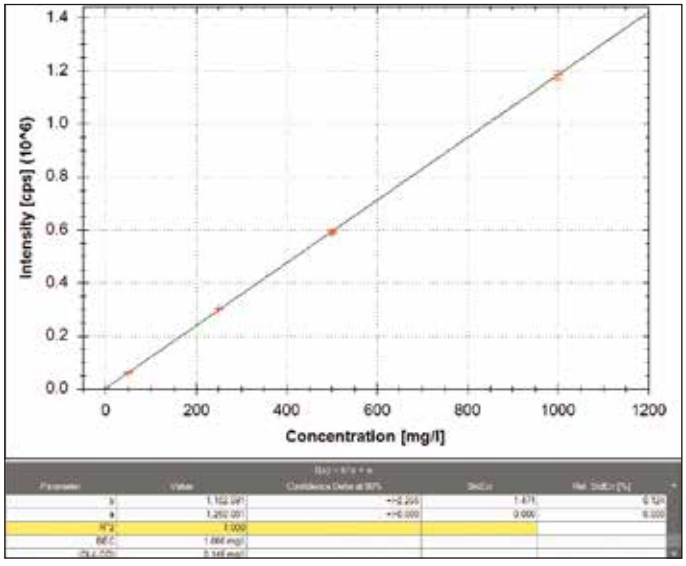

图 7. 硫的标准曲线

表 5 列举了血清 CRMs 中多元素分析的结果。可以看出，测定的浓度值与参考值具有很好的一致性。这些元素的浓度范围广，从亚 ppb 级到百分比含量，显示了 iCAP TQ ICP-MS 动态范围的重要性。经相同步骤分析尿样，也测得了尿液中元素的典型浓度值。

标准空白溶液平行测定 10 次所得标准偏差的 3 倍，对应的浓度定义为检出限（LOD）。各元素的 LOD 乘以稀释倍数（1:10）则为对应的方法检出限（MDL）（见表 5）。所有目标元素的 LODs 均远低于临床研究样品中测得的最终浓度值。

表 5. 血清 CRMs 和尿样的分析结果

（带 * 的元素浓度单位 $mg \cdot L^{-1}$，其它元素浓度单位 $\mu g \cdot L^{-1}$）

	LOD	MDL	Serum L-1		Serum L-2		尿样
			测定值	推荐值	测定值	推荐值	测定值
Na*	0.0027	0.027	2743	2330-3504	3255	2820-4241	2977
Mg*	0.0001	0.0010	21.0	13.4-20.1	39.7	27.1-40.7	85.6
P*	0.0008	0.08	52.3	43.3-65.1	120	88-132	710
S*	0.145	1.3800	1100	1008	1495	1335	476
K*	0.0021	0.02	150	101-153	260	176-265	1946
Ca*	0.002	0.0200	90.1	69-104	124	95-143	99.8
Fe*	0.00002	0.00023	1.64	1.17-1.77	2.18	1.72-2.58	0.005
Li	1.13	11.2920	5778	4202-6320	10806	7739-11639	22.4
B	0.67	6.746	70.1	79.4	87	82.1	1548
Al	0.20	1.9670	54.2	25.2-75.7	122	96-144	13.7
V	0.002	0.022	1.04	1.10	1.26	1.10	0.229
Cr	0.008	0.0800	1.70	1.30-3.05	5.20	4.00-7.50	0.838
Mn	0.008	0.084	10.7	7.9-11.9	14.2	11.6-17.4	0.914
Co	0.0001	0.0010	1.38	0.67-1.57	2.16	2.13-3.97	0.027
Ni	0.006	0.055	6.26	3.38-7.9	9.41	7.9-11.9	1.45
Zn	0.051	0.5130	1052	844-1269	1527	1404-1831	359
As	0.002	0.018	0.383	0.400	0.374	0.380	1.31
Se	0.010	0.1000	80.8	51-120	124	95-176	7.31
Rb	0.004	0.035	4.20	4.40	8.70	8.70	812
Sr	0.006	0.0570	95.7	95.0	106	110	89.2
Mo	0.005	0.048	0.710	0.760	1.20	1.21	7.62
Cd	0.001	0.0100	0.130	0.130	0.140	0.140	0.229
Ti	0.002	0.02	6.64	6.80	6.38	6.80	0.151
Sb	0.006	0.0600	11.6	10.4	16.1	15.0	0.040
I	0.022	0.219	75.5	71.8	69.9	60.9	82.8
Ba	0.003	0.0300	172	190	133	139	2.09
Pb	0.0007	0.007	0.370	0.400	0.666	0.660	0.446
U	0.0001	0.0010	0.288	0.302	0.357	0.359	0.020

在线 QC 测试时间超过八小时（共分析了 9 个 QC 样品）的平均结果如图 8 所示，平均回收率在 95%-110%，标准偏差大多小于 2%（由于 B、As 和 Se 的灵敏度较低，标准偏差 <4%）。所有结果证明该仪器用于分析高基体的生物样品，具有长期稳定性。

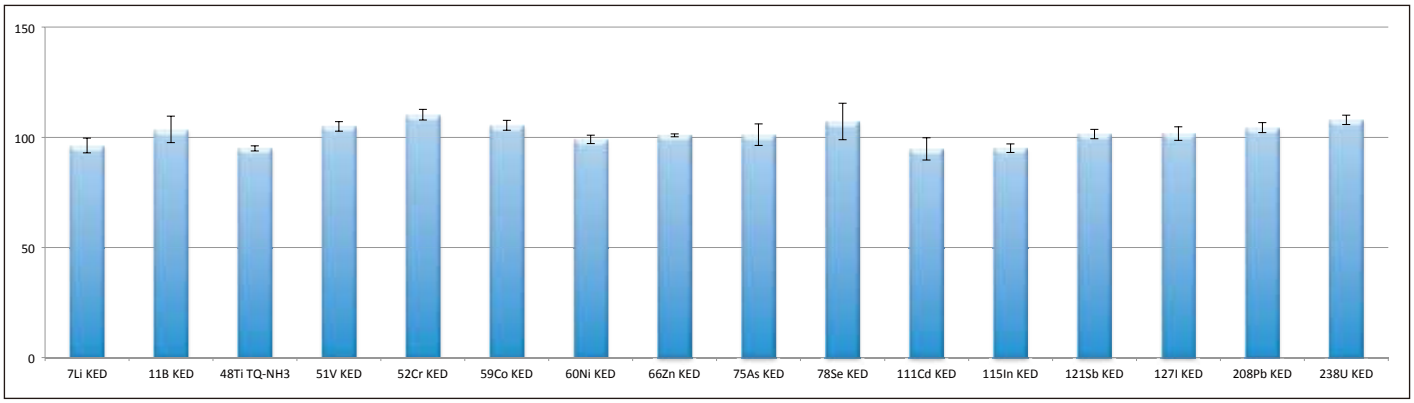

图 8. 样品分析过程中的连续校准验证（CCVs）结果

结论

Thermo Scientific iCAP TQ ICP-MS 为生物样品中的痕量元素分析提供卓越的性能，使之成为临床研究的理想工具。钛作为金属替代髋关节种植体的常见成分，其降解的研究尤为关键，但很难采用 SQ ICP-MS 准确分析钛含量。

iCAP TQ ICP-MS 具备强大的三重四极杆技术，其卓越的分析性能满足了复杂样品中钛和其它痕量元素高灵敏和准确分析的需求。同时，Reaction Finder 工具能够对感兴趣的元素自动选择测定方法，使方法建立变得简单快捷。

赛默飞世尔科技（中国）有限公司 www.thermofisher.com

全国服务热线：800 810 5118
400 650 5118（支持手机用户）

thermo scientific
A Thermo Fisher Scientific Brand