

血样中稀土元素测定前处理方法比较研究

史雪敏¹, 黄文良², 薛冰¹, 李浩宇¹, 王素华^{1*}, 阴海静¹

(1. 包头医学院 公共卫生学院, 内蒙古 包头 014040;

2. 包头市环保局 包头市固体废物监管中心, 内蒙古 包头 014040)

摘 要:通过比较不同前处理方法的优缺点,建立准确测定全血中痕量稀土元素的方法。通过选择蛋白酶消化法和酸消化法作为前处理方法,利用 ICP-MS 测定全血中 15 种稀土元素。结果显示两种方法测定的 15 种稀土元素在 0~500 ng 范围内线性良好,线性相关系数均大于 0.999。酶消化法处理后的样品未完全消解,检出限范围为 0.0116 ng/L~0.1771 ng/L,加标回收率范围为 93.34%~112.84%,空白值在 0.19 ng~3.26 ng 之间。酶消化法测定轻稀土相对标准偏差在 2.7%~7.5%之间,重稀土相对标准偏差均在 3.1%~45.8%之间。酸消化法处理后的样品为透明溶液完全消解,检出限范围为 0.0130 ng/L~0.1284 ng/L,相对标准偏差在 3.6%~9.0%之间,加标回收率范围为 80.05%~120.40%,空白值在 0.77 ng~9.90 ng 之间。研究表明,酸消化法及酶消化法均适用于血中痕量稀土元素的检测,酸消化法样品消解完全,单独样品处理时间较长,操作复杂,因此适合大批量血样中稀土元素的检测;酶消化法空白值低,消化时间短,操作简单,但是样品处理不完全,适用于少量样品快速测定或者超痕量稀土元素的测定。

关键词:酶消化法;酸消化法;ICP-MS;稀土元素

中图分类号:R124

文献标识码:A

文章编号:1004-0277(2021)05-0053-06

稀土元素是元素周期表中镧系元素和钪、钇共十七种金属元素的总称^[1,2]。稀土在我国储量丰富,应用广泛,在材料的制备加工过程中添加稀土元素可以明显提高产品的性能,涉及永磁材料、发光、贮氢、超导材料及军事和农业等领域^[3]。随着稀土的开采及广泛应用,稀土元素可从土壤、空气和水进入动植物体,再通过食物链进入人体,并在人体某些脏器、组织中积累,从而对人体健康或体

内代谢产生不良影响^[4-6]。血液是稀土元素贮藏的部位之一,因此可以通过检测血液中稀土元素的含量来反映人体蓄积稀土元素的情况。但由于一般情况下人体内稀土元素含量很低,在血液中更是痕量存在,所以选取恰当的前处理方法和灵敏度高的仪器进行分析是测定痕量稀土元素的关键。血中微量元素通常采用原子吸收法,这种方法灵敏度高,但也有其局限性,一次只能测定一种元素。而

收稿日期:2020-06-28

基金项目:国家自然科学基金项目(81860575);内蒙古自治区自然科学基金项目(2018MS08048);内蒙古自治区卫生检测与评价草原英才创新团队项目

作者简介:史雪敏(1986-),女,内蒙古赤峰人,硕士,讲师,主要从事卫生检验与环境毒理相关工作,E-mail:sxmyhx@126.com;通讯作者:王素华,教授,E-mail:wangsuhua_btm@163.com

DOI:10.16533/J.CNKI.15-1099/TF.20210040

电感耦合等离子质谱法 (ICP-MS) 可多元素同时进行分析,且具有准确度高、精密度好、检出限低等特点,可节约大量时间^[7-10]。

在测定血液中稀土元素之前,要对血样进行消解,使稀土元素转化成离子状态而便于后续测定。目前常用的处理血样的方法是利用强酸高温消解,但是此方法处理时间长,消耗强酸数量大^[11~13]。近些年有学者研究使用蛋白酶处理血样,测定血中金属元素及稀土元素^[7,8],该方法操作简单,处理时间短,因此本实验旨在比较两种不同前处理方法的优缺点,建立血中痕量稀土元素的检测方法,为人群稀土元素的蓄积评价提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 试剂和仪器

硝酸(优级纯),蛋白酶 K(Promega),曲拉通(索莱宝),15 种稀土混合持证标准物质(北京世纪奥科生物,稀土硝酸盐溶液,溶剂为 3%硝酸溶液,稀土元素包含 La、Ce、Pr、Nd、Sm、Eu、Gd、Tb、Dy、Ho、Er、Tm、Yb、Lu、Y,各元素浓度均为 1000 μg/mL),超纯水,iCAP Qc 电感耦合等离子体质谱联用仪(美国 Thermo Fisher),SQP 分析天平(德国,赛多利斯)等。

1.2 主要试剂的配制

0.02%蛋白酶 K 配制:准确称取 0.020 g 蛋白酶 K,加超纯水至 100.0 g 充分混匀备用。2% HNO_3

+0.002% Triton X-100 混合液的配制:准确称取 14.0 g 浓 HNO_3 (68%),加超纯水至 520.0 g,再加入 10.0 μL Triton X-100,充分溶解混匀备用。

1.3 样品前处理

1.3.1 水浴加热消解法

准确量取 0.5 mL 全血样品于具塞比色管中,加浓硝酸 2 mL 放置 12 h 预消解。后于沸水浴中消解至颜色透明,赶酸后,用 3%硝酸溶液定容至 10 mL 后,摇匀后上机测试。同时按照上述方法制作空白样品,平行样品及加标样品。

1.3.2 酶消化法

取 0.5 mL 全血样本,加入 1 mL 0.02%蛋白酶 K 剧烈震荡 20 s。47 ℃恒温 3 h,冷却至室温。加入 3.5 mL 12% HNO_3 +0.002% Triton X-100 混合液震荡摇匀后上机分析,制作空白样品,平行样品及加标样品。

1.4 标准系列溶液的绘制

吸取稀土元素混合标准液,逐级稀释成 5 ng/L、20 ng/L、50 ng/L、80 ng/L、100 ng/L、500 ng/L 的标准系列进行测定,绘制标准曲线。

1.5 样品测定

仪器点火待稳定后,对仪器的各项指标进行调整,使仪器灵敏度、氧化物、双电荷、分辨率等各项指标可以达到测定技术要求后,具体参数见表 1,以 In 做内标,分别测定标准系列溶液、试剂空白、样品等。

表 1 ICP-MS 仪器工作条件
Table 1 Working conditions of ICP-MS instrument

Parameter	Sampling depth	Atomization chamber temperature	Auxiliary gas flow rate	Measurement mode	Power	Peristaltic pump speed	Scanning mode
Value	5 mm	2.70 ℃	0.8 L/min	Standard	1550 W	40 r/min	Jumping peak

1.6 方法精密度测定

分别测定两种前处理方法的空白样品各 20 次,得出两种方法的相对标准偏差,计算方法精密度。计算公式为:

$$\text{RSD} = (\text{SD} / \text{X}) \times 100\% \tag{1}$$

式中:RSD 为相对标准偏差;SD 为标准偏差;X 为计算结果的算术平均值。

1.7 方法检出限测定

方法的检出限是根据 IUPAC 定义计算:

$$\text{CL} = 3\text{SD} / \text{S} \tag{2}$$

式中:CL 为最低检出浓度;SD 为空白值标准偏差;S 为标准工作曲线在低浓度范围内的斜率。

1.8 方法准确度测定

测定加标样品,计算加标回收率,评价方法准确度。计算公式为:

加标回收率 = (加标样品测定值 - 样品测定值) / 加标量 (3)

2 结果与讨论

2.1 方法的线性范围

各稀土元素标准曲线回归方程式见表 2,结果表明 15 种稀土元素标准曲线线性范围 R 值均大于 0.999,本方法各元素在浓度 0~500 ng/L 具有良好线性。

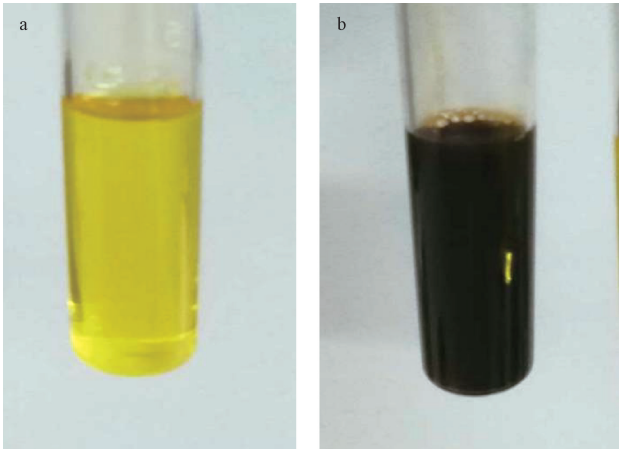
表 2 稀土元素标准曲线方程及线性相关系数 R 值
Table 2 Rare earth element standard curve equation and linear correlation coefficient value

Element	Standard curve equation	R
La	y = 992. 3x	0. 9994
Ce	y = 1110. 8x	0. 9992
Pr	y = 912. 9x	0. 9998
Nd	y = 390. 9x	0. 9999
Sm	y = 163. 4x	0. 9998
Eu	y = 620. 3x	0. 9999
Gd	y = 281. 7x	0. 9996
Tb	y = 1151. 1x	0. 9999
Dy	y = 902. 4x	0. 9998
Ho	y = 1204. 9x	0. 9999
Er	y = 561. 6x	0. 9998
Tm	y = 1267. 9x	0. 9999
Yb	y = 306. 2x	0. 9999
Lu	y = 1244. 4x	0. 9993
Y	y = 548. 9x	0. 9994

2.2 方法的处理效果

酸消化法是利用浓硝酸的强氧化性,将样品中的有机物分解,而达到消化的目的。酸消化法是经典样品前处理的方法,文献报道用硝酸消解生物样

品,如血样、发样等样品,均具有精密度高,检出限低,准确度高的特点^[10~13]。图 1a 为酸消化法消解后的样品,颜色为浅黄色透明溶液;但是该方法处理时间较长,且处理后的样品含酸浓度高,后续需要赶酸处理,平均前处理时间需要 10 h。酶消化法处理后的样品如图 1b,由图可以看出处理后的样品为深红色不透明溶液,表明样品未完全消解。这是因为酶消化法是利用蛋白酶 K 这种高活性蛋白酶将蛋白质降解为小分子肽或氨基酸。但是血液中还存在其他成分,如酶、激素、营养物质以及代谢产物等,这些成分无法被蛋白酶分解,仍然存留于样品溶液中,因而利用蛋白酶处理后的样品呈现深红色不透明状。由于 ICP-MS 是通过等离子体高温使待测样品发生电离,仪器工作时等离子焰炬温度高达 10000 K^[14],血样中未分解的有机物会发生蒸发、分解、电离,质谱仪是通过检测稀土元素的特征离子进行测定的,因此样品中未消解物质不会影响稀土元素的分析测定,但是此种样品在后续运用 ICP-MS 测定时,未降解物质容易残留在雾化器和管路内,需及时对雾化器进行清洗,对管路进行更换,操作带来一定不便性。酶消化法消解样品处理时间短,平均需要 3 h。



a:水浴加热消解法处理后样品;b:酶消解法处理后样品
图 1 前处理后样品
a: Water bath heating digestion treatment of the sample;
b: Enzyme digestion treatment of the sample

Fig. 1 Samples after pre-treatment

2.3 方法检出限

表 3 为两种方法处理血样得到的测定结果,其中由于样品量限制,两种方法所用血样非同一个样品,所以两种方法样品测定值不同,这是由于人体个体差异导致的,而非方法原因。由表 3 可知,人血中稀土元素含量均较低,所测定的 15 种稀土元素含量在 1 ng/L~100 ng/L 范围内,与文献报道结果相符^[8,15,16]。通过公式计算得到方法的检出限,结果如表 3 所示酶消化法总体检出限范

围在 0.0116 ng/L~0.1771 ng/L,水浴加热酸消化法总体检出限范围在 0.0130 ng/L~0.1284 ng/L,表中数据说明酶消化法检出限均比较低,适合血样中痕量稀土元素的测定。进一步进行两种方法的单一稀土元素的检出限比较可知,对于轻稀土酶消化法检出限在 0.0116 ng/L~0.1628 ng/L 之间,普遍低于水浴加热酸消化法 0.0155 ng/L~0.1284 ng/L。对于重稀土而言,酸消化法检出限则更低。

表 3 两种方法的精密度与检出限
Table 3 Precision and detection limit of the two methods

Element	Acid digestion						Enzyme digestion					
	Measured	Spiked	RSD/ %	Detection	Recovery/	Blank	Measured	Spiked	RSD/ %	Detection	Recovery/	Blank
	value/	value/		limit/	%	value/	value/	value/		limit/	%	value/
	(ng/L)	(ng/L)		(ng/L)		ng	(ng/L)	(ng/L)		(ng/L)		ng
La	32.58	80.94	4.6	0.0327	96.73	6.95	52.21	107.89	3.1	0.0221	111.37	1.53
Ce	32.80	78.47	4.9	0.0337	91.34	4.47	78.31	129.95	3.9	0.0268	103.28	2.64
Pr	9.67	53.84	3.6	0.0155	88.34	7.87	22.84	72.34	2.7	0.0116	99.00	2.28
Nd	22.37	62.49	5.3	0.1162	80.24	2.48	92.17	145.14	2.9	0.0636	105.95	0.64
Sm	5.63	57.39	5.6	0.1284	103.51	7.15	19.37	67.46	7.1	0.1628	96.19	3.26
Eu	4.43	59.69	5.7	0.0364	110.53	5.09	8.31	58.76	7.5	0.0479	100.89	1.65
Gd	6.00	66.20	4.0	0.0552	120.40	9.90	54.35	101.02	7.8	0.1076	93.34	2.39
Tb	2.20	42.23	5.0	0.0130	80.05	6.01	9.36	65.78	14.9	0.0387	112.84	0.93
Dy	0.99	55.96	5.0	0.0657	109.94	3.14	3.40	54.67	8.1	0.1064	102.54	0.51
Ho	1.69	43.07	6.1	0.0151	82.76	1.88	1.90	51.95	22.8	0.0564	100.09	0.31
Er	2.43	57.47	7.6	0.0732	110.08	7.44	10.53	61.48	10.5	0.1011	101.90	1.35
Tm	1.49	45.49	9.0	0.0212	87.99	0.81	1.03	50.25	30.5	0.0718	98.45	0.21
Yb	1.88	50.68	6.9	0.0675	97.61	5.09	5.72	55.72	18.1	0.1771	100.01	0.64
Lu	1.36	44.19	8.5	0.0204	85.67	0.77	1.15	50.03	45.8	0.1100	97.75	0.19
Y	14.23	58.93	4.6	0.0330	89.41	5.09	32.62	85.94	3.1	0.0222	106.64	1.65

注:样品测定值及加标测定值均为平行双样结果平均值,样品加标量均为 50 ng/L

2.4 方法的精密度与空白值

用相对标准偏差衡量方法的精密度,如表 3 所示,对于酶消化法而言,轻稀土的相对标准偏差范围在 2.7%~7.1%之间,重稀土的相对标准偏差在 3.1%~45.8%之间,说明对于轻稀土的测定酶消化法相对标准偏差较低,精密度较好;酸消化法的相对标准偏差范围在 3.6%~9.0%

之间,说明该方法对于测定 15 种稀土元素来说相对标准偏差都比较低,适用于 15 种稀土元素的测定。水浴加热法样品空白值在 0.77 ng~9.90 ng,而酶消化法样品空白值在 0.19 ng~3.26 ng 之间,表明酶消化法样品空白值更低,更适用于测定人血中含量相对更低的稀土元素,如 Eu、Tb、Dy、Ho、Er 等。

2.5 方法的准确性

利用加标回收率来评价方法的准确性,从表 3 中水浴加热酸消化法的加标回收率范围在 80.05%~120.40%,酶消化法的加标回收率范围在 93.34%~112.84%。从表中数据可以得出两种方法处理后的样品稀土元素均具有较高的加标回收率,符合准确性要求。

3 结论

本研究通过比较两种不同前处理方法检测血液中稀土元素的特点,确定其适用范围。酸消化法及酶消化法均适用于血中痕量稀土元素的检测,酸消化法样品消解完全,单独样品处理时间较长,操作复杂,因此适合大批量血样中 15 种稀土元素的检测;酶消化法空白值低,消化时间短,操作简单,但是样品处理不完全,适用于少量样品快速测定以及样品中含量较低的稀土元素的测定。

参考文献:

[1] 刘光华. 稀土材料学[M]. 北京:化学工业出版社, 2007.
Liu G H. Rare Earth Materials Science[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007.

[2] 徐光宪. 稀土(下册)[M]. 北京:冶金工业出版社, 1995.
Xu G X. Rare Earth (Volume Three) [M]. Beijing: Metallurgical Industry Press, 1995.

[3] 周楠. 稀土材料的应用与发展探究[J]. 科技经济导刊,2019,27(27):78.
Zhou N. Research on application and development of rare earth materials[J]. Journal of Science & Technology Economics,2019,27(27):78.

[4] 刘建国,王素华,武婧,苏鑫. 稀土元素生物效应研究进展[J]. 中国职业医学,2015,42(3):335-337.
Liu J G, Wang S H, Wu J, Su X. Research progress on the biological effects of rare earth elements [J]. Chinese Occupational Medicine,2015,42(3):335-337.

[5] Ze Y G, Cheng J, Cai J W, Cheng Z, Hu R P, Hong F S. The impairment of liver DNA conformation and liver apoptosis of mice caused by $CeCl_3$ [J]. Biological Trace El-

ement Research,2011,143(1):437-445.

[6] 阴海静,高红萍,邵汉文,高艳荣. 氧化钕和氟化钕粉尘对作业人员血液学指标及炎性细胞因子表达的影响[J]. 稀土,2015,36(6):138-141.
Yin H J, Gao H P, Shao H W, Gao Y R. Effects of neodymium oxide and neodymium fluoride dust on hematology indexes and inflammatory cytokine expression of workers[J]. Chinese Rare Earths,2015,36(6):138-141.

[7] 许瑛华,梁旭霞,连晓文,朱杰民,杜达安. 酶消化-ICP/MS 法测定血中稀土元素的方法研究[J]. 中国卫生检验杂志,2006,(7):769-772.
Xu Y H, Liang X X, Lian X W, Zhu J M, Du D A. Study on the determination of rare earth elements in blood by enzymatic digestion-ICP/MS [J]. Chinese Journal of Health Inspection,2006,(7):769-772.

[8] 许瑛华,马文军,邓峰,梁旭霞,朱杰民,杜达安. 酶消化-ICP/MS 法测定广东省部分地区居民血中稀土元素含量[J]. 华南预防医学,2006,(4):1-5.
Xu Y H, Ma W J, Deng F, Liang X X, Zhu J M, Du D A. Determination of rare earth elements in blood of residents in some areas of Guangdong Province by enzymatic digestion-ICP/MS [J]. South China Preventive Medicine, 2006,(4):1-5.

[9] 赵宇航,黄文良,侯双印,张佳男,史雪敏. 微波消解电感耦合等离子体质谱法测定土壤中稀土元素的方法[J]. 包头医学院学报,2019,35(10):84-87.
Zhao Y H, Huang W L, Hou S Y, Zhang J N, Shi X M. Method for determination of rare earth elements in soil by microwave digestion inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. Journal of Baotou Medical College, 2019,35(10):84-87.

[10] 申治国,徐新云,张顺祥,张仁利,何雅青. ICP-AES 和 ICP-MS 法测定血中微量元素[J]. 现代预防医学,2003,(5):644-645.
Shen Z G, Xu X Y, Zhang S X, Zhang R L, He Y Q. Determination of trace elements in blood by ICP-AES and ICP-MS [J]. Modern Preventive Medicine, 2003,(5):644-645.

[11] 梁娜,宰建陶,钱雪峰. 稀土元素检测中预处理的研究进展[J]. 上海师范大学学报(自然科学版),2017,46(6):826-834.
Liang N, Zai J T, Qian X F. Research progress of pretreatment in rare earth element detection [J]. Journal of

- Shanghai Normal University (Natural Science Edition), 2017, 46(6): 826-834.
- [12] 陈杭亭, 曹淑琴, 曾宪津, 孟路, 赵大庆, 倪嘉纘. 人体血浆中 15 种超痕量稀土元素的电感耦合等离子体质谱法测定[J]. 光谱学与光谱分析, 2000, (3): 339-342.
- Chen H T, Cao S Q, Zeng X J, Meng L, Zhao D Q, Ni J Z. Determination of 15 ultra-trace rare earth elements in human plasma by inductively coupled plasma mass spectrometry[J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2000, (3): 339-342.
- [13] 张立锋, 周凯红, 张翼明, 许涛. 微波消解—电感耦合等离子体质谱法测定羊体各部位稀土总量[J]. 稀土, 2019, 40(6): 96-104.
- Zhang L F, Zhou K H, Zhang Y M, Xu T. Microwave digestion-inductively coupled plasma mass spectrometry for determination of total rare earths in various parts of sheep body[J]. Chinese Rare Earths, 2019, 40(6): 96-104.
- [14] 刘虎生. 电感耦合等离子体质谱技术与应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2005.
- Liu H S. Technology and Application of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005.
- [15] 包田美, 田颖, 王丽霞, 武婷, 卢丽娜, 马鸿宇, 王丽. 某市稀土矿区居民镧等稀土元素水平的调查[J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2018, 36(2): 99-101.
- Bao T M, Tian Y, Wang L X, Wu T, Lu L N, Ma H Y, Wang L. Investigation on the level of lanthanum and other rare earth elements among residents in a rare earth mining area in a city[J]. Chinese Journal of Occupational Health and Occupational Diseases, 2018, 36(2): 99-101.
- [16] 解清, 诸洪达, 王小燕, 欧阳荔, 张经华, 刘洋, 王京宇. 中国成年男子全血及器官组织中稀土元素分布模式[J]. 现代仪器, 2008, (1): 23-26.
- Xie Q, Zhu H D, Wang X Y, Ouyang L, Zhang J H, Liu Y, Wang J Y. Distribution pattern of rare earth elements in whole blood and organ tissues of Chinese adult men [J]. Modern Instruments, 2008, (1): 23-26.

Comparative Study on Pretreatment Methods of Rare Earth Elements in Blood Samples

SHI Xue-min¹, HUANG Wen-liang², XUE Bing¹, LI Hao-yu¹, WANG Su-hua^{1*}, YIN Hai-jing¹

(1. School of Public Health, Baotou Medical College, Baotou 014040, China;

2. Baotou Solid Waste Supervision Center, Baotou Environmental Protection Bureau, Baotou 014040, China)

Abstract: By comparison of the advantages and disadvantages of different pretreatment methods, an accurate method for the determination of trace rare earth elements in whole blood was established. Enzyme digestion and acid digestion were selected as pretreatment methods, and 15 rare earth elements in whole blood were determined by ICP-MS. The result shows that the 15 rare earth elements determined by the two methods were linear in the range of 0~500 ng, and the linear correlation coefficients were all more than 0.999. The sample treated by enzyme digestion method was not completely digested, the detection limit was 0.0116 ng/L~0.1771 ng/L, the recovery range was 93.34% to 112.84%, and the blank value was between 0.19 ng~3.26 ng. The relative standard deviations of light rare earth and heavy rare earths determined by enzyme digestion method are 2.7%~7.5% and 3.1%~45.8%, respectively. The sample treated by acid digestion method was completely digested in transparent solution, and the detection limit was 0.0130 ng/L~0.1284 ng/L, with relative standard deviation between 3.6% and 9.0%, the recovery range of 80.05% and 120.40%, and the blank value between 0.77 ng~9.90 ng. Both acid digestion method and enzyme digestion method are suitable for the determination of 15 trace rare earths in blood. Acid digestion method has the advantages of complete digestion, long treatment time and complex operation, so it is suitable for the determination of rare earth elements in large quantities of blood samples. Enzyme digestion method has the advantages of short digestion time and simple operation, but the sample treatment is not complete, so it is suitable for rapid determination of a small number of samples.

Key words: enzyme digestion; acid digestion; ICP-MS; rare earth elements