

电感耦合等离子体质谱法在临床样品分析中的应用

宋娟娥, 于 水*

(国家生物医学分析中心, 北京 100850)

摘要: 本文对近年来电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)在临床样品微量元素及形态分析中的应用进行了综述, 讨论了应用 ICP-MS 技术测定临床样品微量元素的三种处理和分析方法(直接稀释法, 湿法消解法和微波消解法), 列举了部分含量测定的实例。介绍了联用技术高效液相色谱(HPLC)、气相色谱(GC)、超临界流体色谱(SFC)和毛细管电泳(CE)在形态分析中的应用, 指出了现存的问题, 探讨了可能的解决方案。

关键词: 电感耦合等离子体质谱(ICP-MS); 临床样品; 综述

中图分类号: O657.63 文献标识码: A 文章编号: 1004-2997(2006)03-182-11

Application of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry in Clinical Samples Analysis

SONG Juan-e, YU Shui*

(National Center of Biomedical Analysis, Beijing, 100850, China)

Abstract: A review on the content and speciation analysis of trace elements in clinical samples by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) was presented. The study is mainly focused on the following subjects: sample preparation (simple dilution, wet digestion and microwave digestion were compared with each other); determination and speciation analysis of trace elements. Furthermore, the application of the hyphenated technique including high performance liquid chromatography (HPLC), gas chromatography (GC), supercritical fluid chromatography (SFC) and capillary electrophoresis(CE) are introduced, some problems in the application and the handing strategies are simply presented at the end.

Key words: inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS); clinical sample; review

在自然界存在的 92 种天然元素中, 与人类生命活动密切相关的有 26 种。根据它们在人体内的含量和作用的差异分为常量必需元素和微量必需元素。常量元素包括 K、Ca、Na、Mg、P、S、Cl 等。微量元素有 Cr、Mn、Fe、Co、Ni、Cu、Zn、Mo、I、Se、F 和 Si 等十几种。这些元素以一

定的浓度分布在人的体液和各种器官中, 在人的生命活动中起着重要作用。Fe 用于合成血红蛋白, 参与氧和二氧化碳的转运, 在生物氧化和呼吸过程中起重要作用。Cu 参与造血过程, 主要影响铁的吸收、运送和利用; 参与酶合成, 对细胞、呼吸、神经和内分泌均具有一定的作用。Zn

加速生长发育、增强创伤组织的修复;参与味觉、视觉、食欲及性功能的调节以及能量、细胞分解和其他物质的代谢;协调免疫反应,维持生殖等;Se 具有抗氧化作用,刺激免疫球蛋白和抗体的产生,拮抗和降低某些有毒元素及物质的毒性,参与三羧酸循环,影响视力传导和生育。Co 是维生素 B₁₂ 的组成成分,参与体内一碳单位代谢、核苷酸和蛋白质的合成;促进铁的吸收和储存铁的动员,刺激造血功能;提高锌的生物活性;促进脂肪代谢,预防脂肪在肝内的沉积。这些元素的作用具有二重性,在体内的含量过高或过低都会引起不同的疾病^[1]。另外,微量元素比值的研究也在疾病预防和诊断方面发挥着重要作用。如铜、锌在生化代谢许多方面具有相互拮抗作用,在缺锌的亚临床阶段,可见血清铜及铜/锌比值升高。铜/锌比值较血清锌更能准确地反映体内锌的营养状况,糖尿病患者体内的铜/锌比值高于正常人,因此铜/锌比值也是评价糖尿病人体内缺锌的灵敏指标^[2]。

随着生命科学的研究进展,人们对微量元素在人体内的作用认识越来越全面。微量元素在人体中存在适量的平衡,各种微量元素之间不仅有各自独立作用,而且相互协调、相互拮抗,元素只有在人体内的比例合适才能发挥其良性效应。同时许多微量元素的生理活性和毒性在很大程度上取决于它们的存在形态^[3]。因此如何准确、快速、方便的检测人体内微量元素的含量及形态,补充微量元素,排除有毒有害元素,更好的了解微量元素的摄入和排出情况,为疾病预防和临床治疗提供有价值的资料成为与微量元素相关的领域亟待解决的问题。目前常用的分析样品是人体各种体液如血液(包括全血、血清、血浆)、尿液,也有一些其它样品比如头发、指甲等。

目前可用于人体微量元素检测的方法有原子吸收光谱法(AAS)、电感耦合等离子体原子发射光谱法(ICP-AES)、电感耦合等离子体质谱法(ICP-MS)、同位素稀释质谱法(ID-MS)、中子活化分析法(INAA)、X 射线荧光分析法(XRF)、分子光谱法、生化法、电化学分析法等。其中,应用最为广泛的是 ICP-AES 法和 AAS 法,尤其是石墨炉原子吸收光谱(GF-AAS)法。然而,ICP-AES 法分析临床样品基体效应难以解决,而且使用 ICP-AES 不能测定某些元素(如:As、Hg、Pb、Cd 等元素需要额外采用 GF-AAS 技术进行测定)。另外,样品需求量大也是 ICP-AES 法存在的问题。GF-AAS 不适宜使用

有机溶剂,分析速度慢,并且基体干扰十分严重,对于不同的元素必须采用不同的基体改进剂,复杂的操作步骤和较低的工作效率限制了它的广泛使用。更重要的是,GF-AAS 法分析 Hg、Tl、U 和 B 等元素时检测限不能满足体液等临床样品的分析要求。ICP-MS 技术提供了最低的检出限、最宽的动态线性范围($10^{-12} \sim 10^{-3}$ g/g)、干扰少、精密度高、分析速度快,可进行多元素同时测定以及可提供精确的同位素信息等优点,已被广泛地应用于环境、地质、材料、化工、医药、食品安全等领域。

1 ICP-MS 在临床样品元素含量测定中的应用

1.1 样品制备

临床样品基体中含有大量的盐和有机质,而痕量元素的含量基本上均在 $0.00x \sim x$ $\mu\text{g/L}$ 级甚至更低。因此需要对样品进行前处理制成适合于进行 ICP-MS 分析的供试液。临床样品常用的制备方法主要有:直接稀释法、湿法消解法和微波消解法。

(1)直接稀释法。主要用于血液、尿液等生物体液的制备,优点是制样方法简单、且不使用消解试剂,避免了因试剂不纯对测定的干扰。临床体液样品通常取样量很小,样品的大比例稀释使得某些元素的检出能力变差,还有,样品与标准溶液的粘度差异可能影响准确度。

Heitland^[4]用 HNO₃ 稀释测定了 159 人尿样中的 30 种元素含量范围。Goulle^[5]采用直接稀释法(人发用湿法消解)测定了全血、血浆、尿、人发中的 27~32 种元素。这种方法样品用量少(全血、血浆、尿 0.4 mL,人发 25 mg),前处理简单,充分显示出 ICP-MS 的技术优势。可以预见,该技术将逐渐成为微量元素和有毒有害元素与人类健康量效关系研究的重要手段。

(2)湿法消解法。浓硝酸的强氧化性可迅速破坏大部分有机物,有时也将硝酸与硫酸或高氯酸混合使用。Tan 等^[6]对硝酸、盐酸、硫酸的 5% 溶液在 m/z 30~80 的质谱峰作了扫描,并与去离子水作了详细比较。硝酸溶液与去离子水相同,而盐酸和硫酸则增加了如³⁵Cl¹⁶O、⁴⁰Ar³⁵Cl、⁴⁰Ar³⁷Cl、³²S¹⁶O₂、³²S¹⁶O 等许多与 Cl 和 S 相关的多原子离子背景峰。因此,含有 HClO₄ 和 H₂SO₄ 溶液的质谱背景能够严重影响 V、Cr、As、Se、Zn 等元素的测定, HNO₃ 或

$\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ 体系是 ICP-MS 方法的最理想选择。

Chen 等^[7]用 HNO_3 湿法消解 ICP-MS 测定了指甲中总 As 的浓度。Sarmiento-Gonzalez^[8]利用 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ 湿法消解,扇形磁场高分辨 HR-ICP-MS 和八极杆反应系统 ORS-ICP-MS 两种方法测定全血中的 Ti、V、Cr、Co、Ni 和 Mo。结果表明 ORS-ICP-MS 可以定量分析 Cr、Co、Ni 和 Mo,而 Ti 和 V 由于分别受到多原子离子³¹P¹⁶O 和³⁵Cl¹⁶O 的干扰定量分析较困难;HR-ICP-MS 的分辨率为 3 000 时,可以消除多原子离子的干扰,能准确分析待测元素。

(3)微波消解法。微波消解系统在高温高压下可迅速消解样品,它克服了传统消解方法的效率低、空白高、安全性差等缺点,逐渐成为一种常规的样品处理手段。微波溶样技术在临床样品分析中的应用尤为引人注目,借助这种方法可以快速消解血液^[9-10]、头发和指甲^[11-12]、脑组织和脏器官^[13]、骨骼^[14]等多种生物样品。

文献^[15]报道了浓 HNO_3 微波消解/ICP-MS 测定全血中的 Pb、As、Cr、Al 等 23 种微量元素。样品处理简单且避免使用其它一些易爆、剧毒的酸。

Rodushkin^[12]利用微波辅助消解,扇形磁场双聚焦电感耦合等离子体质谱法(ICP-SMS)测定了人发和指甲中的 71 种元素,通过实验室间的对比以及人发标准品测定考察了方法的准确度。结果表明,大部分元素与标准值吻合较好。实验室间测定 As、Cd、Co、Cu、Mn、Pb、Sb、Se、Zn 元素一致性良好,其它元素含量有偏差,可能是样品污染的控制或干扰校正的差异造成。

Yosinaga^[16]采用不同的消解方法测定人发中 Hg 的含量。结果表明:微波消解的效果和传

统的电热板消解(聚四氟乙烯罐双消解法)效果没有明显的差别,但应用微波消解可以缩短消解的时间,并且可以减少样品被污染的可能性以及减少样品的丢失。

应该指出,由于血液和尿液中碳及 NaCl 浓度较高,由此产生的分子离子干扰(主要干扰见表 1)使得体液分析更加困难。另外,临床样品的高盐基体可能在样品锥口沉积,使仪器的信号不稳定;体液样品取样量小,有时甚至 μL 量级,而传统的 ICP-MS 进样量在 mL/min 左右,对体液的大比例稀释或处理可能带来检测限不足的问题也限制了 ICP-MS 在临床样品分析中的应用。碰撞/反应池技术可以长期耐受高盐样品分析,ORS 技术可以完全消除表 1 所示的多种分子离子干扰,同时分析每个样品多种元素只需一次进样,分析时间仅需要 3~5 min,极大地提高了临床体液样品分析效率和结果的可靠性。

Peter Heitland 和 Ed McCurdy^[17]采用碰撞/反应池消除高盐基体的干扰,快速、可靠的测定了尿液中 23 个痕量元素,建立了大批量尿液的连续测定方法。

Wahlen 等^[18]报告了用带八极杆反应池系统(ORS)的 ICP-MS 分析大批量血液血浆、血清等临床样品的结果。由于血液制品的样品量较小,故实验中采用 PFA-100 微量同心雾化器。该方法分析的长期稳定性、样品稀释的重现性都获得了满意的结果,可以用来进行临床医学以及医药研究领域大批量血液、血清等样品的常规分析。

1.2 含量测定

临床样品中的元素测定主要集中于人体必需的微量元素和有毒有害元素,表 2 列出了部分实例。

表 1 ICP-MS 分析体液样品可能受到的分子离子干扰

Table 1 The interferences of molecular ions in body fluid analysis by ICP-MS

待测离子 Determining ion	干扰离子 Interfering ion	待测离子 Determining ion	干扰离子 Interfering ion	待测离子 Determining ion	干扰离子 Interfering ion
⁵¹ V ⁺	³⁵ Cl ¹⁶ O ⁺	⁶³ Cu ⁺	⁴⁰ Ar ²³ Na ⁺	⁸² Se ⁺	³⁴ S ¹⁶ O ₃ ⁺
⁵² Cr ⁺	⁴⁰ Ar ¹² C ⁺ , ³⁵ Cl ¹⁶ O ¹ H ⁺	⁶⁶ Zn ⁺	³² S ¹⁶ O ¹⁸ O ⁺	⁹⁵ Mo ⁺	⁷⁹ Br ¹⁶ O ⁺
⁵³ Cr ⁺	³⁷ Cl ¹⁶ O ⁺	⁷⁵ As ⁺	⁴⁰ Ar ³⁵ Cl ⁺ , ⁴⁰ Ca ³⁵ Cl ⁺	⁹⁸ Mo ⁺	⁸¹ Br ¹⁶ OH ⁺
⁵⁹ Co ⁺	⁴³ Ca ¹⁶ O ⁺	⁷⁸ Se ⁺	³⁸ Ar ⁴⁰ Ar ⁺	¹⁰³ Rh ⁺	⁴⁰ Ar ⁶³ Cu ⁺
⁶⁰ Ni ⁺	⁴⁴ Ca ¹⁶ O ⁺ , ²³ Na ³⁷ Cl ⁺	⁸⁰ Se ⁺	⁴⁰ Ar ⁴⁰ Ar ⁺ , ⁷⁹ BrH ⁺	¹¹¹ Cd ⁺	⁹⁵ Mo ¹⁶ O ⁺

表 2 ICP-MS 用于临床样品元素含量测定
Table 2 The determination of elements in clinical samples by ICP-MS

样品 Sample	测定元素 Element	检测方法 Method	制备方法 Sample Preparation	文献 Ref.
尿液	Li, Be, V, Cr, Mn, Ni, Co, Cu, Zn, Ga, As, Se, Rb, Sr, Mo, Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Cs, Ba, Pt, Au, Pb, Tl, Bi, U	ORS-ICP-MS	直接稀释	4
尿液	Li, Be, B, Al, V, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, Se, Rb, Sr, Mo, Pd, Cd, Sn, Sb, Te, Ba, W, Pt, Hg, Tl, Pb, Bi, U	ICP-MS	直接稀释	5
尿液	Ti, V, Cr, Co, Ni, Mo	HR-ICP-MS 和 ORS-ICP-MS	直接稀释	8
尿液	Al, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Hg, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sn, Sr, Tl, V, W, Zr	SF-ICP-MS	直接稀释	10
尿液	Pt	ICP-MS	直接稀释	19
尿液	As	HPLC-ICP-MS	直接稀释	20
尿液	Cu, Zn, As, Pb, Se, Ni, Mo	FI-ICP-MS	直接稀释	21
尿液	Al, Ti, V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Ag, Cd, Sn, Sb, Ba, Tl, Pb	ICP-MS	HNO ₃ -H ₂ O ₂ 微波消解	22
尿液	Th, U	HR-ICP-MS	HNO ₃ -H ₂ O- H ₂ O ₂ 紫外消解	23
尿液	U(²³⁵ U / ²³⁸ U)	IR-ICP-MS	直接稀释	24
尿液	Cd(¹¹⁴ Cd / ¹¹¹ Cd)	ID-ICP-MS	超纯水直接稀释	25
尿液	Hg(²⁰² Hg / ²⁰¹ Hg)	FI-VG-ID-ICP-MS	HCl 微波消解	26
血浆, 全血	Li, Be, B, Al, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Rb, Sr, Mo, Cd, Pd, Ag, Sn, Sb, Te, Ba, Hg, W, Pt, Tl, Pb, Bi, U	ICP-MS	HNO ₃ 直接稀释	5
全血, 血清	Al, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Hg, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Sn, Sr, Tl, V, W, Zr	SF-ICP-MS	HNO ₃ 微波消解	10
血浆, 血清	Al, As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, V, Zn, K, Na, Mg	ORS-ICP-MS	氨水, EDTA, TritonX-100 稀释	18
血浆	Pt	ICP-MS	HNO ₃ 直接稀释	19
血浆, 全血	Pt	USN-ICP-MS	HNO ₃ 湿法消解	27
全血	La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Y	ICP-MS	HNO ₃ -HClO ₄ 湿法消解	28
血清	Fe(⁵⁷ Fe / ⁵⁶ Fe), Cu(⁶⁵ Cu / ⁶³ Cu), Zn(⁶⁷ Zn / ⁶⁴ Zn)	ID-ICP-MS	超纯水直接稀释	29
血清	Al, As, B, Be, Cd, Co, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Rb, Se, Sr, Zn	ICP-MS	HNO ₃ -TritonX-100 直接稀释	30
血清	稀土元素	ICP-MS	HNO ₃ -HClO ₄ 直接稀释	31
血液, 唾液	Pb	ICP-MS	HNO ₃ 湿法消解	32
人发	Li, Be, B, Al, V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, Se, Rb, Sr, Mo, Pd, Ag, Cd, Sn, Sb, Te, Ba, W, Pt, Hg, Tl, Pb, Bi, U	ICP-MS	HNO ₃ 湿法消解	5
指甲	As	ICP-MS	HNO ₃ 湿法消解	7
人发, 指甲	As, Se, Hg, Zn, Pb, Ni, Cd, Mn, Cu, Fe	FI-ICP-MS	HNO ₃ -H ₂ O ₂ 微波消解	11
人发, 指甲	71 种元素	ICP-SMS	HNO ₃ -H ₂ O ₂ 微波消解	12
人发	Hg(²⁰¹ Hg / ²⁰² Hg)	ICP-ID-MS	HNO ₃ 微波消解, HNO ₃ 湿法消解	16
人发	As	HPLC-ICP-MS	HNO ₃ -H ₂ O ₂ 微波消解	20
人发	La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Y	ICP-MS	HNO ₃ -HClO ₄ 湿法消解	28
人发	Al, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, As, Cd, Hg, Pb	ICP-MS	HNO ₃ 微波消解	33
人发, 指甲	70 多种元素	LA-ICP-SMS	-	34
骨骼, 人发	Pb(²⁰⁷ Pb / ²⁰⁶ Pb, ²⁰⁸ Pb / ²⁰⁶ Pb, ²⁰⁴ Pb / ²⁰⁶ Pb)	IR-ICP-MS	HNO ₃ -HBr 湿法消解	35
乳汁(乳清)	Ca, K, Mg, P, S, Co, Cu, Fe, I, Mn, Mo, Se, Zn, Cd, Pb	HPLC-ICP-MS	离心	36

Rodushkin 和 Axelsson^[34]利用激光融蚀扇形磁场双聚焦高分辨电感耦合等离子体质谱仪(LA-ICP-SMS)对头发和指甲中的 70 种元素进行了固体直接进样定量分析,与悬浮雾化相比,该方法省时且空间分辨率高。单用头发或指甲即可研究元素浓度和分布类型。现已证实环境暴露将导致指甲表面严重的外源性污染,污染深度可达 100 μm ,而且普通的清洗无法洗掉。在研究的 50 多种元素中,只有 Cl、Na、Se、Te 和 Zn 的污染是可以忽略的,故激光融蚀(LA)可以区分指甲样品内源性和外源性污染,在环境暴露和职业暴露,评价营养状况、疾病诊断和法医学鉴定方面具有重要意义。Chojnacka^[37]考察了年龄、性别、吸烟习惯、头发颜色对头发中 33 种微量元素浓度的影响,结果表明 Ti、Se、Mn、Ni、Hg、Cd、As 和 Co 的浓度水平与年龄无关;Al、Cd 和 Co 与性别无关;Cd、K、Ag、Ca、Co 和 Be 与吸烟习惯无关;P、Fe、Al、Mn 和 Cr 与头发颜色无关。该方法使头发中微量元素的分析结果更加可靠,提示我们在测定痕量元素时应该考虑诸多因素如年龄、性别、地域、饮食习惯等。

2 ICP-MS 在临床样品元素形态分析中的应用

许多微量元素的生理活性或毒性在很大程度上取决于它的存在形态。目前,形态分析主要有两种手段^[38]:(1)直接分离检测金属形态与毒性的关系(如许多联用技术)。(2)运用计算机模型计算配位化合物中金属离子的形态。这种方法用于金属阳离子与配位基快速交换,样品在金属混合物中能迅速达到平衡的系统,这种计算模型根据金属化合物的平衡常数和一系列的质量平衡方程给出金属混合物在原始样品中的分布。二者相比,联用技术在当前形态分析的应用比较广泛。

2.1 HPLC-ICP-MS 联用技术

HPLC-ICP-MS 作为一种很成熟的联用技术,已有多篇文章发表^[39-42]。该技术具有检测限低,分析范围广,分离性能高等优点,近年来被广泛应用于临床样品,尤其是尿液的形态分析中^[43-48]。从元素种类来讲,形态分析主要集中在 As、Se、Hg 和 Cd 等一些有毒、有害的元素。HPLC-ICP-MS 的应用举例列于表 3。

血液中的 Al 通过与转铁蛋白(Tf)结合被转运到受体,Nagaoka 和 Maitani^[60]在不外加含 Al 物质的条件下,利用阴离子交换柱 HPLC/

HR-ICP-MS 测定了血清中 Al 的两种形态: $\text{Al}_N\text{-Tf}$ (Al 与转铁蛋白 N 端键合); $\text{Al}_N, \text{Fe}_C\text{-Tf}$ (Al 与转铁蛋白 N 端键合同时 Fe 与转铁蛋白 C 端键合)。作者采用柠檬酸钠清洗色谱柱以降低背景的 Al 和 Fe,该方法使得 Al 和 Fe 的检测限大大降低,分别为 0.1 $\mu\text{g/L}$ ($S/N=3$), 0.02 $\mu\text{g/L}$ ($S/N=3$)。研究发现溶液中阴离子的存在和类型决定 Al 与转铁蛋白的亲力和优先结合部位,例如草酸盐可以提高 Al 与血清转铁蛋白的亲合力,从而 $\text{Al}_N, \text{Fe}_C\text{-Tf}$ 比其他形式的转铁蛋白更易转运到受体,使得 $\text{Al}_2\text{-Tf}$ (2 个 Al 原子键合转铁蛋白)或 $\text{Al}, \text{Fe-Tf}$ 很容易与脑细胞结合,进而透过血脑屏障,使 Al 的毒性增加。所以,合适的阴离子是控制 Al 毒性大小的关键。另外,健康人血清中 Al 的含量约为 3 $\mu\text{g/L}$,而环境中 Al 元素分布广泛,因此,如何避免外源性 Al 的干扰对 Al 元素的形态分析至关重要。

Szpunar 等^[61]用分子排阻色谱法(SEC)分析金属基药物时用凝胶柱 Supelco Progel TSK (4.0 cm \times 6 mm),调 pH 为 7.2 的 30 mmol/L Tris-HCl 缓冲液作为洗脱液,分别测定 2 种含 Pt 和 3 种含 Ru 的抗癌金属基药物,发现含 Pt 药物顺氯氨和羰基铂在结合了血浆蛋白之后,其抗癌作用显著下降;而含 Ru 药物 [Him⁻ trans [RuCl₄-im₂]]、[Na⁻ rans [RuCl₄-ind₂]] 和 [Hind⁻ trans [RuCl₄-ind₂]] 在结合一个血浆蛋白分子之后,其抗癌能力不仅没有减弱,反而比结合前更强。

乳汁中大部分微量元素与蛋白质结合,因此 SEC 是最好的分离技术,用 0.1 mol/L 的 Tris 缓冲液为流动相调到生理的 pH 值。样品离心(除脂肪和不溶物)后即可分析^[36]。

Jackie Morton 等人应用简单的样品处理方法提取头发中不同形态的 Hg^[62]。在他们的研究中发现,虽然 HPLC-ICP-MS 在分析不同 Hg 的形态时能达到 ng/L 量级的检测限,但在 0.1 g 头发样品中,只有其中的甲基汞与 Hg²⁺ 达到约 500 ng/g 时才能明显检出,当样品量不足或 Hg 不同形态浓度较低时,这些形态分析结果就变得不可靠。陈登云等^[58]通过控制于 -5 $^{\circ}\text{C}$ 的双通道雾室除去大量的有机蒸汽和 1 550 W 高功率 ICP 对样品基体的完全分解,保持了内标元素 Bi 的信号稳定,实现了不同 Hg 的形态的检测限达到 ng/L 量级,进一步拓展了 HPLC-ICP-MS 分析 Hg 形态的检测能力,该方法可用于实际头发样品以及海水等环境的分析。

表 3 HPLC-ICP-MS 在临床样品形态分析中的应用

Table 3 Specific application of HPLC-ICP-MS in clinical samples analysis

元素种类 Element	元素形态 Species	基质 Sample	色谱条件 Chromatographic condition	文献 Ref.
As	砷胆碱(AsC), 砷甜菜碱(AsB), 二甲基砷酸(DMA ^V), 二甲基次砷酸(DMA ^{III}), 甲基砷酸(MMA ^V), 次甲基砷酸(MMA ^{III}), 亚砷酸盐(As ^{III}), 砷酸盐(As ^V)	尿液	阴离子交换柱; 流动相: 水, 柠檬酸, HNO ₃	49,50
As	As ^{III} , As ^V , MMA ^V , DMA ^V , AsB, AsC	尿液	阴离子交换柱; 流动相: 水, 15 mmol/L 酒石酸	51
As	As ^V , MMA, As ^{III} , DMA, AsB	鱼组织, 尿液	C18 Altima 柱; 流动相: 5 mmol/L 己烷硫酸, 5 mmol/L 柠檬酸, pH 4.5	52
As	As ^{III} , As ^V , MMA ^V , DMA ^V	尿液	阴离子交换柱, 梯度洗脱; 流动相: 水-磷酸盐缓冲液; 水-Tris 缓冲液	53
As	As ^{III} , As ^V , MMA ^{III} , MMA ^V , DMA ^{III} , DMA ^V , AsB	尿液, 人发, 指甲, 血浆, 红细胞	阴离子交换柱; 流动相: 15mmol/L 水合柠檬酸, pH 2.0	54
Se	谷胱肝肽过氧化酶, 硒酸盐, 亚硒酸盐	大鼠肝脏、肾脏、血清、尿液	分子排阻色谱柱; 流动相: 50 mmol/L Tris-HCl 或 Tris-HNO ₃ 缓冲液, pH 7.4	55
Se	阳离子/中性硒, 硒代甲硫氨酸(SeM), 硒代乙硫氨酸(SeE), Se(IV), 硒代胱氨酸(SeC), Se(VI)	血清	阴离子交换柱, 梯度洗脱; 流动相: 0.6 mmol/L NaOH 和 0.5% TMAH	56
Se	硒蛋白 P、谷胱甘肽过氧化酶(GSH-PX)、白蛋白	血浆	肝磷脂亲合柱与分子排阻色谱柱串联; 流动相: (1) 0.02 mol/L 磷酸钠缓冲液, pH 7.5; (2) 在流动相(1)中加入 500 单位/mL 肝磷脂	57
Hg	无机汞(Hg(II)), 甲基汞(MMM), 乙基汞(MEM), 苯基汞(MPhM)	尿液	C18 柱; 流动相: 20% 乙腈; 80% 水, 5 mmol/L 戊烷磺酸铵, pH 3.4	44
Hg	甲基汞, 无机汞, 乙基汞	人发	ZORBAXXDB-C18 柱; 流动相: 0.06 mol/L 醋酸铵, 5%(V/V) 甲醇, 0.1% 2-巯基乙醇, pH 6.8	58
Hg	甲基汞, 无机汞, 乙基汞	角鲨鱼, 剑鱼	反向 C ₈ 色谱柱; 流动相: 0.05% m/v L-半胱氨酸, 0.05% v/v 2-巯基乙醇, pH 6.6	59

Mandal 等^[54] 利用阴离子交换色谱分离测定了生物样品中 As 的形态和浓度, 检测限为 0.14~0.33 $\mu\text{g/L}$ 。研究发现尿液中含有砷的 7 种形态即砷甜菜碱(AsB, 1.0%)、二甲基砷酸(DMA^V, 47.5%)、二甲基次砷酸(DMA^{III}, 13.0%)、甲基砷酸(MMA^V, 10.5%)、次甲基砷酸(MMA^{III}, 6.6%)、亚砷酸盐(As^{III}, 11.3%)和砷酸盐(As^V, 10.1%); 指甲含 As^{III}(62.4%)、As^V(20.2%)、MMA^V(5.7%)、DMA^{III}(8.9%)

和 DMA^V(2.8%) 5 种形态; 人发含有砷的 4 种形态: As^{III}(58.9%)、As^V(34.8%)、MMA^V(2.9%)和 DMA^V(3.4%); 红细胞仅含 AsB(22.5%)和 DMA^V(77.5%); 血浆包括 AsB(16.7%)、As^{III}(21.1%)、MMA^V(27.1%)以及 DMA^V(35.1%)。作者通过比较饮用 3~10 年砷污染水的受试者和 2 年停止饮用砷污染水的居民, 证实尿液、指甲、人发与水中砷的含量息息相关, 这些样品都可以作为砷暴露的生物标记

物。然而尿液中砷的形态复杂,人发存在外源性污染的问题使得砷只有形态分离后才能作为生物标记物;指甲虽然也存在外源性污染,但与其吸附能力相比,外源性污染可以忽略,而且指甲中砷的形态与总砷浓度有相关性,因此指甲中总砷的浓度是砷污染地区最理想的生物标记物。

Kobayashi 等^[55]给大鼠静脉注射硒酸盐和亚硒酸盐后,采用稳定同位素示踪(⁸²Se 作为同位素标记物)HPLC-ICP-MS 法研究药物代谢。实验通过测定大鼠肝脏、肾脏、血清和尿液中外源性 Se 的分布,表明硒酸盐约 50% 直接被肝脏吸收,而亚硒酸盐先在血液中被还原为硒化物,硒化物与白蛋白结合转运至肝脏。亚硒酸盐在血流中会发生氧化还原反应,而硒酸盐则比较稳定。所以尽管硒酸盐应用较少(在肠外给药中约为亚硒酸盐的 1/4),但在全肠外营养中较亚硒酸盐安全。

HPLC-ICP-MS 技术联用的困难:(1)接口问题。即样品溶液经 HPLC 分离后在线引入 ICP 的雾化系统,如何减少传输管线的死体积、防止色谱峰变宽。虽然 HPLC 的流速与 ICP 进样速率基本一致,但常规的气动雾化器可引起色谱峰变宽,而且因雾化效率低,灵敏度无法满足分析要求。(2)有时不能鉴定特定元素的形态。形态分析需要与标准品比较保留时间。但是,当样品色谱峰与标准品不一致时,就需要提供更多其它信息来判定化合物。电喷雾质谱 ESI-MS 可以作为辅助信息鉴定色谱峰。(3)标准物质缺乏。元素形态分析很大程度取决于基质效应,提取和分离技术或多或少受样品组成的影响,标准物质的使用很好的解决了这个问题。然而,随着样品类型的不断增多,简单易得的标准物质却成为 HPLC-ICP-MS 广泛应用的障碍,从天然植物中提取可以用于形态分析鉴定的标准物质在一定程度上可以解决这个问题。

2.2 其它联用技术

气相色谱法(GC)作为一种联用技术,最明显的缺点在于要将痕量元素衍生为挥发性的有机金属化合物,而这种螯合剂却常常难以获得,即便有也可能因不够纯而导致较高的空白,但由于在衍生的过程中分析物被纯化、并和基体化合物相分离,同时在气相色谱分离过程中进一步得到纯化,因而 GC/MS 具有极高的灵敏度,是作为有机金属化合物高灵敏度最具潜力的物种分

析方法。Michalke 等^[63]综述了 GC-ICP-MS 的接口设计、等离子体源、质量分析器以及应用。GC-ICP-MS 在临床样品分析的应用已有文献报道^[64-67]。

超临界流体是具有特殊性质的气体,分析物在超临界流体中的扩散系数介于液体和气体之间,色谱效率高于液相色谱。超临界流体色谱(SFC)可分离气体样品和热不稳定及非气化的物质。Vela^[68]对 SFC 的原理、接口及应用作了介绍。已有 SFC 分离 ICP-MS 检测有机金属化合物的实际应用^[69-70]。

毛细管电泳电感耦合等离子体质谱法(CE-ICP-MS)具有样品需要量少,分离效率高,运行成本低,易于推广,分离生物大分子(如蛋白质分子和肽分子)能力强等优点。因此特别适于金属元素的化学形态分离。Kannamkumarath 等^[71]综述了 CE-ICP-MS 技术的原理,接口以及在元素形态分析中的应用。G. Álvarez-Llamas 等^[72]采用在线 CE-VSG-ICP-MS 技术分离了兔肝脏中不同形态的 Cd-金属硫蛋白中的甲基甲基硫(MTs)的亚型(MT1 和 MT2)。Pröfrock^[73]分离了尿液中的 S。Lusting^[74]等分离了乳汁、血清和尿液中 I 的 3~4 种形态。

由于 CE 的流动体积小(10~100 nL),流速低(<40 nL/min),因此,接口问题是 CE 面临的主要困难;另外,样品的基质效应以及 CE 分离的化学条件也限制了它在元素形态分析中的广泛应用。然而,在形态分析中 CE-ICP-MS 一次进样可分离不同电荷(阳离子、中性分子和阴离子)和不同大小的离子,因此被应用于环境和生物领域,生物样品元素分析主要集中于 As^[75-76]和 Se^[77]。

3 结 语

ICP-MS 作为优秀的临床样品元素分析技术有着广阔的前景,预计今后的发展趋势有:(1)监测有毒有害金属的正常用量和中毒剂量;(2)同位素比值法(或稀释法)研究药代动力学;(3)评价人体内源性元素的含量,研究微量元素和有害元素与人类健康的量效关系,辅助临床诊断和治疗;(4)联用技术及其在体液中重要元素的形态分析的应用。

随着人类对健康的关注和研究工作的不断深入,ICP-MS 分析技术将在临床医学领域发挥

重要作用。

参考文献:

- [1] 侯振江,周秀艳.微量元素与疾病[J].微量元素与健康研究,2004,21(6):16-17.
- [2] 张涛,刘义.糖尿病微血管病变与微量元素锌铜的相关性[J].微量元素与健康研究,2005,22(2):50-52.
- [3] 胡乃梁.微量元素的平衡和微量元素的二重性[J].微量元素与健康研究,2005,22(1):49-51.
- [4] Heitland P, Köster H D. Biomonitoring of 30 Trace Elements in Urine of Children and Adults by ICP-MS [J]. Clin Chim Acta, 2006, 365: 310-318.
- [5] Goullé J P, Mahieu L, Castermant J, et al. Metal and Metalloid Multi-Elementary ICP-MS Validation in Whole Blood, Plasma, Urine and Hair. Reference Values[J]. Forensic Sci Int, 2005, 153(1):39-44.
- [6] Tan S H, Horlick G. Background Spectral Features in Inductively Coupled Plasma/Mass Spectrometry [J]. Appl Spectrosc, 1986, 40(4): 445-460.
- [7] Chen K L, Amarasiriwardena C J, Christiani D C. Determination of Total Arsenic Concentrations in Nails by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry[J]. Biol Trace Elem Res, 1999, 67(2): 109-125.
- [8] Sarmiento-Gonzalez A, Marchante-Gayon J M, Tejerina-Lobo J M, et al. ICP-MS Multielemental Determination of Metals Potentially Released from Dental Implants and Articular Prostheses in Human Biological Fluids [J]. Anal Bioanal Chem, 2005, 382(4):1 001-1 009.
- [9] 申治国,徐新云,张顺祥,等. ICP-AES 和 ICP-MS 法测定血中微量元素[J]. 现代预防医学,2003,30(5):644-645.
- [10] Bocca B, Forte G, Petrucci F, et al. Development of Methods for the Quantification of Essential and Toxic Elements in Human Biomonitoring [J]. Ann Ist Super Sanità, 2005, 41(2): 165-170.
- [11] Samanta G, Sharma R, Roychowdhury T, et al. Arsenic and Other Elements in Hair, Nails, and Skin-Scales of Arsenic Victims in West Bengal, India[J]. Sci Total Environ, 2004, 326: 33-47.
- [12] Rodushkina I, Axelsson M D. Application of Double Focusing Sector Field ICP-MS for Multielemental Characterization of Human Hair and Nails. Part I. Analytical methodology [J]. Sci Total Environ, 2000,250: 83-100.
- [13] Krachler M, Radner H, Irgolic KJ, et al. Microwave Digestion Method for the Determination of Trace Elements in Brain and Liver Samples by ICP-MS [J]. Anal Chem, 1996, 335(3): 120-128.
- [14] Granadrillo V A, Parrade ML. Determination of Total Chromium in Whole Blood, Blood Components, Bone, and Urine by Fast Furnace Program Electrothermal Atomization AAS [J]. Anal Chem, 1994, 66(21): 3 624-3 631.
- [15] 杨艳伟,丁亮,戚其平,等.全血中 23 种微量元素的微波消解电感耦合等离子体质谱测定法[J].环境与健康杂志,2003,20(4):240-241.
- [16] Yoshinaga J, Morita M. Determination of Mercury in Biological and Environmental Samples by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with the Isotope Dilution Technique[J]. J Anal Atom Spectrom, 1997, 12:417-420.
- [17] Heitland P, McCurdy E. Rapid and Reliable Routine Analysis of Urine by Octopole Reaction Cell ICP-MS[J]. Agilent ICP-MS Application Notes, 2005: 5 989-2 482EN.
- [18] Wahlen R, Evans L, Turner J, et al. The Use of Collision/Reaction Cell ICP-MS for the Simultaneous Determination of 18 Elements in Blood and Serum Samples[J]. Agilent ICP-MS Application Notes, 2005: 5 989-2 885EN.
- [19] Bettinelli M. ICP-MS Determination of Pt in Biological Fluids of Patients Treated with Antitumor Agents: Evaluation of Analytical Uncertainty [J]. Microchemical Journal, 2005, 79:357-365.
- [20] Uchino T, Roychowdhury T, Ando M, et al. Intake of Arsenic From Water, Food Composites and Excretion Through Urine, Hair From a Studied Population in West Bengal, India [J]. Food Chem Toxicol, 2005(in press).
- [21] Wang J H, Hansen E H, Gammelgaard B. Flow Injection On-line Dilution for Multi-Element Determination in Human Urine with Detection by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry [J]. Talanta, 2001, 55: 117-126.
- [22] 杨忠乔,虞爱旭.微波消化-ICP-MS 法测定尿样中 15 种金属元素[J].分析测试技术与仪器,2003,9(2):98-100.
- [23] Al-Jundi J, Werner E, Roth P, et al. Thorium

- and Uranium Contents in Human Urine: Influence of Age and Residential Area[J]. *J Environ Radio*, 2004, 71: 61-70.
- [24] Thomas J, Gluodenis Jr. Determination of Uranium in Urine-Isotopic Ratios in Urine Samples using ICP-MS [J]. *Agilent ICP-MS Application Notes*, 2001: 5 988-0 531EN.
- [25] Valles Mota J P, Encinar J R, Delacampa M R F, et al. Determination of Cadmium in Environmental and Biological Reference Materials using Isotope Dilution Analysis with a Double Focusing ICP-MS: a Comparison with Quadrupole ICP-MS [J]. *J Anal Atom Spectrom*, 1999, 14 (9): 1 467-1 473.
- [26] Wei M T, Jiang S J. Determination of Mercury in Urine and Seawater by Flow Injection Vapor Generation Iotope Dilution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry[J]. *J Chinese Chem Society*, 1999, 46(6): 871-878.
- [27] Morrison J G, White P, McDougall S, et al. Validation of a Highly Sensitive ICP-MS Method for the Determination of Platinum in Biofluids; Application to Clinical Pharmacokinetic Studies with Oxaliplatin [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2000, 24(1):1-10.
- [28] 刘虎生,王耐芬,薛 斌,等.电感耦合等离子体质谱测定生物样品中超痕量稀土元素[J].*质谱学报*,2002,23(2):96-99.
- [29] Muniz C S, Gayón J M M, Alonso J I G, et al. Accurate Determination of Iron, Copper and Zinc in Human Serum by Isotope Dilution Analysis using Double Focusing ICP-MS[J]. *J Anal Atom Spectrom*, 1999, 14(9): 1 505-1 510.
- [30] Forrer R, Gautschi K, Lutz H. Simultaneous Measurement of the Trace Elements Al, As, B, Be, Cd, Co, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Rb, Se, Sr and Zn in Human Serum and Their Reference Ranges by ICP-MS[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2001, 80(1): 77-93.
- [31] Inagaki K, Haraguchi H. Determination of Rare Earth Elements in Human Blood Serum by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry after Whelating Resin Preconcentration[J]. *Analyst*, 2000, 125:191-196.
- [32] Timchalk C, Poet T S, Lin Y, et al. Development of an Integrated Microanalytical System for Analysis of Lead in Saliva and Linkage to a Physiologically Based Pharmacokinetic Model Describing Lead Saliva Secretion[J]. *AIHAJ*, 2001, 62 (3): 295-302.
- [33] Yamashita T. Determination of Trace Elements in Hair by ICP-MS[J]. *Agilent ICP-MS Application Notes*, 2000: 5 965-5 258EN.
- [34] Rodushkin I, Axelsson MD. Application of Double Focusing Sector Field ICP-MS for Multielemental Characterization of Human Hair and Nails. Part III. Direct Analysis by Laser Ablation [J]. *Sci Total Environ*, 2003, 305: 23-39.
- [35] Yoshinaga J. Isotope Ratio Analysis of Lead in Biological Materials by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry [J]. *Tohoku J Exp Med*, 1996, 178(1): 37-47.
- [36] Bratter P, Blasco I N, Negretti de Bretter V E, et al. Speciation as an Analytical Aid in Trace Element Research in Infant Nutrition[J]. *Analyst*, 1998, 123(5): 821-826.
- [37] Chojnacka K, Górecka H, Górecki H. The Effect of Age, Sex, Smoking Habit and Hair Color on the Composition of Hair[J]. *Environ Toxicol Pharm*, 2006, (in press).
- [38] Caruso J A, Wuilloud R G, Altamirano J C, et al. Modeling and Separation-Detection Methods to Evaluate the Speciation of Metals for Toxicity assessment[J]. *J Toxicol Environ Health Part B Crit Rev*, 2006, 9(1): 41-61.
- [39] Montes-Bayón M, DeNicola K, Caruso J A. Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry [J]. *J Chromatogr A*, 2003, 1 000:457-476.
- [40] Michalke B. The Coupling of LC to ICP-MS in Element Speciation-Part II: Recent Trends in Application[J]. *Trends Anal Chem*, 2002, 21 (3):154-165.
- [41] Huang J Q, Hu X, Zhang J R, et al. The Application of Inductively Coupled plasma Mass Spectrometry in Pharmaceutical and Biomedical Analysis [J]. *J Pharm Biom Anal*, 2006, 40: 227-234.
- [42] Caruso J A, Montes-Bayon M. Elemental Speciation Studies-New Directions for Trace Metal Analysis[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2003, 56: 148-163.
- [43] Gammelgaard B, Bendahl L, Sidenius U, et al. Selenium Speciation in Urine by Ion-Pairing Chromatography with Perfluorinated Carboxylic Acids and ICP-MS Detection[J]. *J Anal Atom*

- Spectrom, 2002, 17:570-575.
- [44] Shum S C K, Pang H M, Houk R S. Speciation of Mercury and Lead Compounds by Microbore Column Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrom with Direct Injection Nebulization [J]. *Anal Chem*, 1992, 64: 2 444-2 450.
- [45] Ritsema R, Dukan L, Navarro TR, et al. Speciation of Arsenic Compounds in Urine by LC-ICP-MS [J]. *Appl Organomet Chem*, 1998, 12: 591-599.
- [46] Lai V W-M, Sun Y M, Ting E, et al. Arsenic Speciation in Human Urine: Are We all the Same? [J]. *Toxicol Appl Pharma*, 2004, 198: 297-306.
- [47] Samanta G, Chowdhury U K, Mandala B K, et al. High Performance Liquid Chromatography Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry for Speciation of Aarsenic Compounds in Urine[J]. *Microchemical Journal*, 2000, 65: 113-127.
- [48] Chatterjee A, Tao H, Shibata Y, et al. Determination of Selenium Compounds in Urine by High-Performance Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry[J]. *J Chromatogr A*, 2003, 997: 249-257.
- [49] Suzuki K T, Mandal B K, Ogra Y. Speciation of Arsenic in Body Fluids[J]. *Talanta*, 2002, 58 (1):111-119.
- [50] Mandal B K, Ogra Y, Suzuki K T. Identification of Dimethylarsinous and Monomethylarsonous Acids in Human Urine of the Arsenic-Affected Areas in West Bengal, India[J]. *Chem Res Toxicol*, 2001, 14 (4): 371-378.
- [51] Chen YC, Amarasiriwardena C J, Hsueh Y M, et al. Stability of Arsenic Species and Insoluble Arsenic in Human Urine[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers*, 2002, 11: 1 427-1 433.
- [52] Wrobel K, Wrobel K, Parker B, et al. Determination of As(III), As(V), Monomethylarsonic Acid, Dimethylarsinic Acid and Arsenobetaine by HPLC-ICP-MS: Analysis of Reference Materials, Fish Tissues and Urine[J]. *Talanta*, 2002, 58: 899-907
- [53] Milstein L S, Essader A, Pellizzari E D, et al. Selection of a Suitable Mobile Phase for the Speciation of Four Arsenic Compounds in Drinking Water Samples Using Ion-Exchange Chromatography Coupled to Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry [J]. *Environ Int*, 2002, 28 (4): 277-283.
- [54] Mandal B K, Ogra Y, Anzai K, et al. Speciation of Arsenic in Biological Samples[J]. *Toxicol Appl Pharma*, 2004, 198(3): 307-318.
- [55] Kobayashi Y, Ogra Y, Suzuki K T. Speciation and Metabolism of Selenium Injected With Se-Enriched Selenite and Selenate in Rats [J]. *J Chromatogr B*, 2001, 760:73-81.
- [56] Michalke B. Selenium Speciation in Human Serum of Cystic Fibrosis Patients Compared to Serum from Healthy Persons[J]. *J Chromatogr A*, 2004, 1058: 203-208.
- [57] Koyama H, Omura K, Ejima A, et al. Separation of Selenium-Containing Proteins in Human and Mouse Plasma Using Tandem High-Performance Liquid Chromatography Columns Coupled with Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry [J]. *Anal Biochem*, 1999, 267(1): 84-91.
- [58] 陈登云, 刘娜, 张兰英. 应用 HPLC-ICP-MS 联用技术进行 Hg 的形态分析研究[J]. *环境化学*, 2005, 24(1): 110-113.
- [59] Chiou C S, Jiang S J, Danadurai K S K. Determination of Mercury Compounds in Fish by Microwave-Assisted Extraction and Liquid Chromatography-Vapor Generation-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry[J]. *Spectrochim Acta B Atom Spectrosc*, 2001, 56: 1 133-1 142.
- [60] Nagaoka M H, Maitani T. Binding Affinity of Aluminium to Human Serum Transferrin and Effects of Carbohydrate Chain Modification as Studied by HPLC/High-Resolution ICP-MS[J]. *J Inorganic Biochem*, 2005, 99: 1 887-1 894.
- [61] Szpunar J, Makarov A, Pieper T, et al. Investigation of Metalloprotein Interactions by Size-Exclusion Chromatography Coupled with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS)[J]. *Anal Chim Acta*, 1999, 387(2): 135-144.
- [62] Morton J, Carolan V A, Gardiner P H E. The Speciation of Inorganic and Methylmercury in Human Hair by High-Performance Liquid Chromatography Coupled with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry [J]. *J Anal Atom Spectrom*, 2002, 17(4): 377-381.
- [63] Bouyssiere B, Szpunar J, Lobinski R. Gas Chromatography with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometric Detection in Speciation Anal-

- ysis[J]. *Spectrochim Acta B Atom Spectrosc.* 2002, 57: 805-828.
- [64] Slaets S, Adams F, Pereiro I R, et al. Optimization of the Coupling of Multicapillary GC with ICP-MS for Mercury Speciation Analysis in Biological Materials [J]. *J Anal Atom Spectrom.* 1999, 14: 851-857.
- [65] Armstrong H E L, Corns W T, Stockwell P B, et al. Comparison of AFS and ICP-MS Detection Coupled with Gas Chromatography for the Determination of Methylmercury in Marine Samples [J]. *Anal Chim Acta.* 1999, 390: 245-253.
- [66] Tu Q, Qian J, Frech W. Rapid Determination of Methylmercury in Biological Materials by GC-MIP-AES or GC-ICP-MS Following Simultaneous Ultrasonicassisted in Situ Ethylation and Solvent Extraction[J]. *J Anal Atom Spectrom.* 2000, 15: 1 583-1 588.
- [67] Garcia Fernandez R G, Bayon M M, Alonso J I G, et al. Comparison of Different Derivatization Approaches for Mercury Speciation in Biological Tissues by Gas Chromatography Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry [J]. *J Mass Spectrom.* 2000, 35: 639-646.
- [68] Vela N P, Caruso J A. Element Selective Detection for Supercritical-Fluid Chromatography[J]. *J Biochem and Biophys Methods.* 2000, 43: 45-58.
- [69] Kumar U T, Vela N P, Caruso J A. Multi-Element Detection of Organometals by Supercritical-Fluid chromatography with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometric Detection [J]. *J Chromatogr Sci.* 1995, 33(11): 606-610.
- [70] Vela N P, Caruso J A. Determination of Tri- and Tetra-Organotin Compounds by Supercritical-Fluid Chromatography with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometric Detection[J]. *J Anal Atom Spectrom.* 1992, 7: 971-977.
- [71] Kannamkumarath S S, Wrobel K, Wrobel K, et al. Capillary Electrophoresis-Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry: an Attractive Complementary Technique for Elemental Speciation Analysis [J]. *J Chromatogr A.* 2002, 975: 245-266.
- [72] Álvarez-Llamas G, Campa M R F, Sanz-Medel A. An Alternative Interface for CE-ICP-MS Cadmium Speciation in Metallothioneins Based on Volatile Species Generation [J]. *Anal Chim Acta.* 2005, 546: 236-243.
- [73] Pröfrock D, Prange A, Schaumlöffel D, et al. Optimization of Capillary Electrophoresis-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry for Species Analysis of Metallothionein-like Proteins Extracted from Liver Tissues of Elbe-Bream and Roe Deer [J]. *Spectrochim Acta B Atom Spectrosc.* 2003, 58(8): 1 403-1 415.
- [74] Lustig S, Michalke B, Beck W, et al. Platinum Speciation with Hyphenated Techniques: High Performance Liquid Chromatography and Capillary Electrophoresis On-Line Coupled to an Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer-Application to Aqueous Extracts From a Platinum Treated Soil [J]. *Fresenius J Anal Chem.* 1998, 360(1): 18-25.
- [75] Michalke B, Schramel P. Selenium Speciation by Interfacing Capillary Electrophoresis with Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry [J]. *Electrophoresis.* 1998, 19(2): 270-275.
- [76] Holderbeke M V, Zhao Y N, Vanhaecke F, et al. Speciation of Six Arsenic Compounds using Capillary Electrophoresis-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry [J]. *J Anal Atom Spectrom.* 1999, 14(2): 229-234.
- [77] Michalke B, Schramel P. Application of Capillary Zone Electrophoresis-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry and Capillary Isoelectric Focusing-Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry for Selenium Speciation [J]. *J Chromatogr A.* 1998, 807(1): 71-80.