

Direkte Bestimmung von Spurenelementen in Körperflüssigkeiten mittels ICP-Massenspektrometrie

Dr. René Chemnitzer

Analytik Jena AG

Einleitung

Mit dem besseren Verständnis der Relevanz verschiedener Elemente für Stoffwechsel oder andere Vorgänge in Organismen steigt auch das Interesse an der Analyse biologischer Proben wie Körperflüssigkeiten. Hierbei geht es vor allem um die Versorgung mit essentiellen Elementen und die Erkennung toxischer Elemente. Für diese Anforderungen sind schnelle und nachweisstarke Analysetechniken erforderlich.

Die Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma bietet niedrige Nachweisgrenzen, Multielementanalytik, vereinfachte Probenaufbereitung und geringen Probenverbrauch. Sie ist bestens geeignet für die Erkennung von Spurenelementen bis in den Ultraspurenbereich in verschiedensten biologischen Proben.

Analyse verschiedener Matrices

Die Analyse biologischer Proben ermöglicht unterschiedlichste Schlussfolgerungen über den aktuellen Zustand eines Organismus.

Es können verschiedene Matrices untersucht werden (Tabelle 1). Die Eigenschaften der Körperflüssigkeiten stehen in Verbindung mit speziellen Funktionen des Organismus. Die

Auswahl der richtigen Matrix ist daher von äußerster Wichtigkeit für die Ermittlung der richtigen Antwort auf eine bestimmte Frage.

Blut ist ein Transportmedium. Die Konzentration der Spurenelemente ist abhängig von der kurzfristigen Aufnahme. Da eine unzureichende Aufnahme von Mineralien durch die eigenen Reserven des Körpers ausgeglichen wird, kann z.B. über das Serum kein Mineralstoffmangel nachgewiesen werden.

Viel diskutiert wird auch der Nutzen von Haaranalysen. Hier sind die Ergebnisse stark abhängig von Alter, Geschlecht, Länge und Farbe des Haars, sowie von verwendeten Pflegeprodukten und Umweltfaktoren. Eine Unterscheidung der endogenen und exogenen Teile ist nicht möglich und ein Zusammenhang zwischen Elementarkonzentrationen in den Haaren und im Blut/Urin ist nicht nachgewiesen [1]. Allgemein anerkannt ist die Analyse von Haarproben zum Nachweis von Medikamenten und bei der Analyse historischer Proben [2].

Analytische Methoden

Traditionell wurde die Charakterisierung von Körperflüssigkeiten mithilfe von Atomabsorptionstechniken durchgeführt. Mit der Kombi-

nation von Flammen- (F-AAS) und Graphitrohr-AAS (GF-AAS) kann ein breiter Konzentrationsbereich abgedeckt werden. AAS ist eine Einzelementtechnik und benötigt eine elementspezifische Anregungsquelle. Daher ist die Analyse zeitaufwändig und die Anzahl der Elemente, die charakterisiert werden können, begrenzt.

Heutzutage wird mit ICP-MS eine Multielementtechnik verwendet, die die niedrigen Nachweisgrenzen der GF-AAS und einen dynamischen Bereich von 10 Größenordnungen ermöglicht. Eine Charakterisierung, die für ein Element zwischen 30 Sek. und 5 Min. dauern konnte, kann jetzt für >20 Elemente in weniger als 5 Min. durchgeführt werden.

ICP-MS, mit seiner Fähigkeit, einzelne Isotope zu erkennen, kann auch für Langzeitstudien mit isotopenangereicherten Medikamenten eingesetzt werden.

Methodenentwicklung

Die Herausforderungen bei der Untersuchung von Vollblut liegen in der Probenmatrix und den Interferenzen, die die Analyse relevanter Elemente beeinflussen. Der Schwerpunkt liegt auf essentiellen aber auch auf toxischen Elementen wie Selen, Arsen, Cadmium, Blei und Chrom.

Interferenzen aus der Probenmatrix und beispielsweise Argon oder Sauerstoff können mit Interferenzmanagement-Systemen behoben werden. Diese Systeme arbeiten mit Wasserstoff und Helium um Kollisionen und Reaktionen mit den molekularen Interferenzen hervorzurufen. Das Ergebnis ist die Bildung neuer und nicht-störender Spezies oder die Verringerung der kinetischen Energie der störenden Moleküle, so dass diese den Massenfilter nicht erreichen.

Die Vorbereitung der Probe ist sehr einfach. Alle flüssigen Matrices können verdünnt und direkt mit dem ICP-MS analysiert werden. Die Kalibrierung der Methode kann extern mit verschiedenen Kalibrierstufen oder durch Standardadditions-Kalibrierung an einer

Tab. 1: Körperflüssigkeiten-Probenmatrix

Forschungsbereich	Entsprechende Probenmatrix
Medizin	
• Überwachung der Mineralstoff-Balance	Urin
• Nachweis von Medikamenten und Suchtmitteln	Plasma
• Schadstoffexposition	Serum
• Nachweis von Giften	Vollblut
• Historische Proben	Haare
Therapeutische Medizin	
• Pharmakodynamik	

realen Probe erfolgen. Die Standardadditions-Kalibrierung ist dann sinnvoll, wenn die Probenzuführung und Anregung im Plasma durch Matrix-Effekte beeinflusst werden.

Instrumentelles

Die direkte Multielementanalyse von Kontrollmaterialien wie Plasma und Vollblut wurde mit einem PlasmaQuant® MS, ICP-MS von Analytik Jena durchgeführt. Alle Arbeiten fanden unter Routineanalysebedingungen im Labor statt, nicht unter Reinraumbedingungen.



Abb. 1: PlasmaQuant® MS Elite

Materialien und Reagenzien

Bei der Vorbereitung der Proben und Kalibrierlösungen wurden hochreine Salpetersäure (Baseline®, Seastar Chemicals), Triton-X 100 (Sigma Aldrich) und deionisiertes Wasser (18 MΩ cm⁻¹) verwendet. Alle Laborgeräte, neue ebenso wie gebrauchte, wurden sorgfältig mit einer sauren Waschlösung gereinigt und gespült und die sauberen Behälter bis zu ihrem Gebrauch mit 2% v/v HNO₃ gefüllt. Aus einer Multielement-Lösung wurden drei Multielement-Kalibrierlösungen in 2% v/v HNO₃ hergestellt. Eine Lösung für den internen Standard mit 1% v/v HNO₃ wurde ebenfalls vorbereitet. Der interne Standard wurde mithilfe eines „Y-Stücks“ dem Zerstäuber zugeführt.

Probenanalyse

Alle zertifizierten Materialien wurden nach Herstellerangaben vorbereitet. Nach vorsichtigem Auflösen der Materialien wurden die Proben mit einer Verdünnungslösung aus 0,5% v/v HNO₃ und 0,005% v/v TritonX-100 verdünnt. Die aufgeführten Messwerte sind der Mittelwert aus zwei Wiederholungsmessungen.

Das Referenzmaterial ClinChek®-Kontrollplasma Level 1 und 2 (Recipe®) wurde in 3 mL deionisiertem Wasser aufgelöst und anschließend mit der Verdünnungslösung 1:10 verdünnt. Die Ergebnisse (Tabelle 2) stimmen perfekt mit den zertifizierten Konzentrationen überein.

Das Referenzmaterial „Spurenelemente in Vollblut“ (Seronorm®) wurde nach vorsichtigem Lösen in 5mL deionisiertem Wasser 1:20 verdünnt. Tabelle 3 zeigt die hervorragende Übereinstimmung zwischen den gemessenen und den zertifizierten Werten.

Fazit

Die Versuche haben erfolgreich gezeigt, dass das ICP-MS PlasmaQuant® MS eine einfache und effektive Lösung für die direkte

Bestimmung von Spurenelementen in komplexen Proben, wie Plasma und Vollblut, darstellt. Durch die Fähigkeit zur schnellen Multielementanalytik und ihre niedrigen Nachweisgrenzen wird die ICP-MS bei der Charakterisierung von Körperflüssigkeiten eine immer größere Rolle spielen. Die einfache Handhabung und praktische Software-Lösungen haben die Anwendung dieser Methode in den letzten Jahren stark vorangetrieben.

Referenzen

[1] *Dtsch Arztebl* 2002, 99: A3026-3029 [Heft 45]

[2] *Bundesgesundheitsbl-Gesundheitsforsch-Gesundheitsschutz* 2005, 48, 246-250

Tab. 2: Ergebnisse für die Analyse von ClinChek®-Kontrollplasma Level 1 und 2 (Ch.-B.: 417)

Element		Plasma Level 1		Plasma Level 2	
		gemessen	zertifiziert	gemessen	zertifiziert
Cd	µg/L	2,2	2,0 – 3,4	9,8	9 – 15
Cr	µg/L	3,5	2,6 – 4,2	14	11 – 16
Co	µg/L	5	4,1 – 6,7	16,6	14 – 22
Cu	µg/L	850	634 – 1056	1290	1050 – 1750
Fe	µg/L	756	563 – 937	964	859 – 1431
Li	mg/l	2,4	1,9 – 3,1	5,2	3,9 – 6,5
Mg	mg/l	26	23 – 37	33	32 – 37
Mn	µg/L	4,9	3,8 – 6,2	14,6	11 – 17
Mo	µg/L	1,1	0,7 – 1,2	6,6	4,5 – 7,5
Ni	µg/L	7,4	5,9 – 9,7	18	16 – 26
Tl	µg/L	0,03	<1	2,5	2,1 – 3,5
Zn	µg/L	1113	823 – 1371	1338	1133 – 1887

Tab. 3: Ergebnisse für das Referenzmaterial Seronorm™ Vollblut-Spurenelemente Level 1 und 2

Element		Seronorm Level 1		Seronorm Level 2	
		LOT 404107		LOT MR9067	
		gemessen	zertifiziert	gemessen	zertifiziert
Cd	µg/L	0,72	0,67 – 0,76	5,77	5,4 – 7,2
Co	µg/L	0,13	<1	5,3	5,2
Cr	µg/L	1,3	1,2	7,2	7,1
Mn	µg/L	9,5	9	13,9	12,8 – 15,1
Ni	µg/L	1,6	2	5,2	5
Pb	µg/L	33	31 – 39	364	353 – 443