

•师生笔谈•

doi: 10.3866/PKU.DXHX201801012

www.dxxh.pku.edu.cn

分析化学中“检出限”的物理意义及测定方法探究

杨淳³, 郑珊¹, 刘洋¹, 施娅颖¹, 黄朝表^{1,2,*}¹ 浙江师范大学化学与生命科学学院, 浙江 金华 321004² 浙江师范大学行知学院, 浙江 兰溪 321100³ 诸暨中学, 浙江 诸暨 311800

摘要: 阐述了分析化学中各类分析方法的检出限的物理意义、测定方法及可能存在的问题, 并论述了经典的检出限定义的局限性。在利用凝血酶适配体与凝血酶的特异性结合抑制 Pt 纳米颗粒对量子点荧光猝灭检测凝血酶和基于 CuGeO₃ 纳米线和葡萄糖氧化酶(GOx)修饰的玻碳电极(GCE)生物传感器测定葡萄糖的分析方法中, 由于测定信号与被检测物质浓度或浓度的对数成负相关关系, 导致分析方法的检出限与经典的检出限测定产生一定的冲突, 出现了测定精密度越高, 检出限越差的异常情况。

关键词: 检出限; 物理意义; 测定方法

中图分类号: G64; O651

Study on the Physical Meaning and Determination Method of “Detection Limit” in Analytical Chemistry

YANG Chun³, ZHENG Shan¹, LIU Yang¹, SHI Yaying¹, HUANG Chaobiao^{1,2,*}¹ College of Chemistry and Life Sciences, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, Zhejiang Province, P. R. China.² College of XingZhi, Zhejiang Normal University, Lanxi 321100, Zhejiang Province, P. R. China.³ Zhuji High School, Zhuji 311800, Zhejiang Province, P. R. China.

Abstract: In this paper, we studied the physical meaning, measurement methods and potential problems of detection limit in analytical chemistry. The limitation of classical detection limit was also discussed. We studied the detection of thrombin by fluorescence quenching of Pt nanoparticles, based on the specific binding of thrombin aptamer to thrombin. We found a negative correlation between the measured signal and the logarithm of the concentration. In addition, the similar negative correlation was found in the determination of glucose by a glassy carbon electrode biosensor, based on CuGeO₃ nanowires and glucose oxidase. The detection limit of the above two method conflicted with the classical detection limits. It appeared abnormal that the better the determination precision, the worse the detection limit.

Key Words: Detection limit; Physical meaning; Determination

国际纯粹与应用化学联合会(IUPAC)于 1975 年首次提出检出限的概念, 并于 1976 年公开发表^[1]。检出限(LOD, limit of detection)指某一分析方法在给定的置信度条件下可从被测样品中检测待测组分的最小浓度或最小量。有时, 又将检出限称为检测限、检测极限、检测下限等, 其物理意义是当

收稿: 2018-01-08; 录用: 2018-01-22; 网络发表: 2018-01-26

*通讯作者, Email: hcb@zjnu.cn

基金资助: 国家自然科学基金面上项目(21575129)

信号 3 倍于试剂空白信号(背景信号)的标准偏差($S = 3\sigma$)时所对应的被测组分的量;有时也指当信号为试剂空白所产生的背景信号的 3 倍时($S = 3N$)所对应的被测组分的量。在我国,1991 年 8 月,全国自然科学名词审定委员会公布的《化学名词》规定了检出限的定义^[2],并统一了检出限的概念,当然,在实际使用过程中还会出现“检测限”等术语,应理解为与“检出限”相同的概念。所谓“检出限”是一个定性的概念,它只能告诉我们被测样品中被测组分到底是“有”或是“没有”,也就是它只回答“Yes”或“No”的问题,它不能告诉我们被测样品中被测组分有“多少”的定量问题。为了区分检出限与测定限的不同,IUPAC 于 1997 年通过,1998 年发表的《分析术语纲要》^[3](IUPAC Compendium of Analytical Nomenclature)中将“测定限”改名为“定量限”,定量限是定量分析方法实际可能测定的某组分的浓度或质量下限,不能与检出限混淆。

在检出限的具体测定过程中,分析方法不同,测定方法也不同。若仪器基线非常稳定,这时,空白信号几乎为零,无法测定仪器噪音,可在试剂空白中加入极少量的被测组分以充当试剂空白,其目的是为了便于空白信号的测定。但必须指出的是:加入的被测组分的量应尽量小,不然将人为导致测定精密度升高,检出限下降,人为提高分析方法的灵敏度。

分析方法的检出限与仪器检出限不同。仪器检出限仅仅与分析仪器的性能有关,反映了分析仪器能检出与噪音相区别的最小信号的能力;而分析方法检出限不但与仪器噪音有关,而且与实验过程的各个环节有关,如取样、试样处理、分离富集、测定条件等。即分析方法检出限与分析人员、环境、仪器、样品性质等因素均有关。所以,在实际工作中,检出限的测定应说明具体条件。

1 经典分析方法的检出限的物理意义及测定方法

不同的分析方法其检出限的物理意义亦略有不同,测定方法也不同。

1.1 电位分析法

1.1.1 检出限的物理意义

在电位分析法中,离子选择性电极的电极电位与被测离子的活度符合 Nernst 公式:

$$E_{\text{ISE}} = E_{\text{ISE}}^0 \pm \frac{RT}{nF} \ln \alpha$$

IUPAC 规定:当 $E_{\text{ISE}}-\ln \alpha$ 符合图 1 所示的关系曲线时,则延长曲线弯曲前后的直线部分之交点所对应的被测离子的活度(由于测定过程中控制被测溶液与标准溶液的离子强度一致,可直接视为浓度),即为该离子选择性电极的检出限。

若 $E_{\text{ISE}}-\ln \alpha$ 符合图 2 所示的关系曲线,则当校正曲线偏离线性关系 $\frac{18}{n} \text{mV}$ 时所对应的被测离子浓度即为检出限。

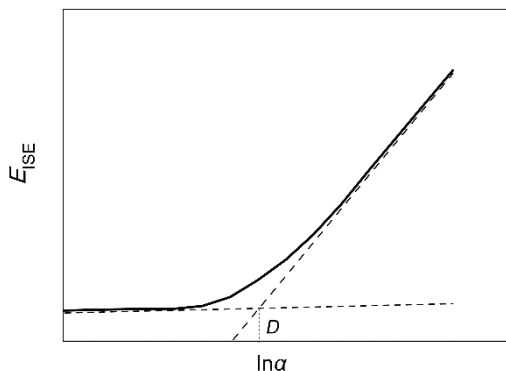


图 1 $E_{\text{ISE}}-\ln \alpha$ 关系曲线(一)

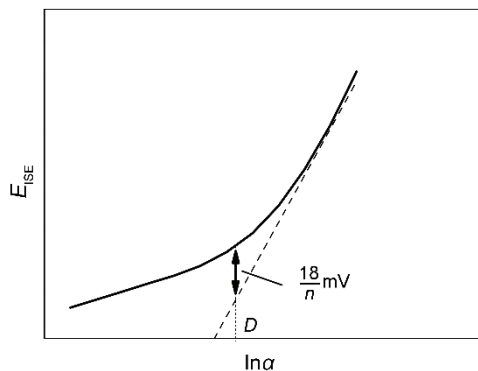


图 2 $E_{\text{ISE}}-\ln \alpha$ 关系曲线(二)

1.1.2 检出限的测定

显然, 根据电位分析法的检出限的物理意义, 人们只须配制一系列不同浓度的被测离子的标准溶液, 然后在相同条件下分别测定, 依据测定结果作出 $E_{\text{ISE}}-\ln\alpha$ 关系曲线, 即可获得离子选择性电极的检出限。

1.2 原子吸收光谱分析法

1.2.1 检出限的物理意义

1975 年, IUPAC 规定^[1]: 原子吸收光谱分析的检出限为当吸光度为试剂空白(噪音)的标准偏差的 3 倍时所对应的被测离子的浓度或质量。

1.2.2 检出限的测定及计算

连续测定试剂空白 9–11 次, 并求出噪音信号的标准偏差。然后, 选定一定浓度的被测离子的标准溶液, 测定其吸光度值, 并通过下式求出检出限:

$$D = \frac{3\sigma c}{\bar{A}}$$

其中: D 为原子吸收光谱分析法对被测元素的检出限; σ 为噪音的标准偏差; c 为标准溶液的浓度; $\bar{A}$ 为浓度为 c 的标准溶液的吸光度的平均值。

在具体测定过程中, 有时会遇到连续 9–11 次的噪音测定结果均为 0.000, 此时, 可以在试剂空白中加入极少量的被测组分标准品, 以此溶液充当“试剂空白”进行测定, 据此, 可获得合理的检出限。但必须指出的是: 加入的被测组分的量应尽量小, 不然将人为导致测定精密度升高, 检出限下降, 人为提高分析方法的灵敏度。

这种检出限的测定方法可以推广应用于任何测定信号与被测物质浓度成正相关关系的分析方法中。

1.3 色谱分析法

1.3.1 检出限的物理意义

色谱分析法的检出限为当检测器的响应信号为仪器噪音信号的 3 倍时所对应的被测物质的浓度或质量。

1.3.2 检出限的测定及计算

若选择不同的检测器, 色谱分析法的检出限的表达方式不同。

浓度型检测器液体进样:

$$D_L = \frac{1.065W_{1/2}F_c}{U_1} M_L$$

浓度型检测器气体进样:

$$D_V = \frac{1.065W_{1/2}F_c}{U_1} M_V$$

质量型检测器:

$$D_T = \frac{1.065W_{1/2} \times 60}{U_1} M_T$$

其中: $W_{1/2}$ 为色谱峰半宽(cm); F_c 为载气流速($\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$); U_1 为记录仪走纸速度($\text{cm} \cdot \text{min}^{-1}$); M 为检测器的敏感度($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 、 $\text{g} \cdot \text{s}^{-1}$)。

色谱分析的检出限不仅与所选用的检测器有关, 而且与试样性质、色谱柱的柱效能及色谱操作条件有关。

2 新兴分析方法的检出限的物理意义及测定方法

以上三类检出限几乎可以涵盖分析化学中所有经典分析方法的检出限及其测定。然而, 随着科

学技术的发展,不断有新兴分析方法涌现,尤其在生化分析领域,对于这些新兴分析方法而言,经典的检出限测定方法似乎受到了限制。

2.1 凝血酶的检测

目前,我们开发了一种新型的凝血酶光电化学(PEC)传感器,其测定原理如图3所示^[4]。

巯基乙酸作为保护基团的 CdS 量子点(QDs)表面以化学键连接凝血酶适配体 5'-NH₂(CH₂)₆-TTTTTCACTGTGGTTGGTGTGGTTGG (ONS1),并将其固定到氧化铟锡导电玻璃电极(ITO)表面。当 3'-SH(CH₂)₆-CCAACCACAGTG (ONS2)修饰的铂纳米颗粒(Pt NPs)因 ONS1 与 ONS2 的杂交作用进入电极体系时,将导致 CdS QDs 与 Pt NPs 的能量转移,结果电极体系的电流大幅下降;但若加入凝血酶,由于凝血酶与 ONS1 的特异性结合,电极体系的电流下降幅度明显减小,利用此现象可以测定凝血酶的含量。

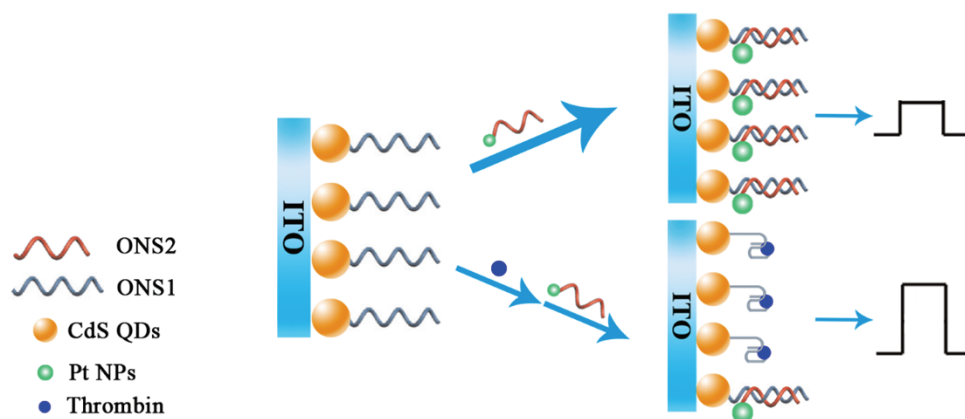


图3 凝血酶光电化学传感器(PEC)的传感原理

实验证明,电极体系的电流衰减率与凝血酶浓度的对数成线性关系,如图4所示^[4]。

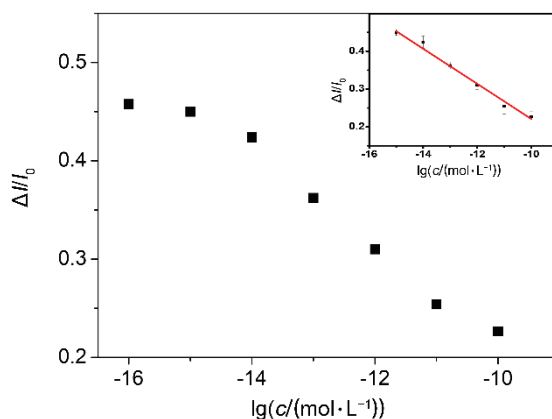


图4 光电流衰减率与凝血酶浓度关系曲线

在此,电流衰减率($\Delta I/I_0$)与凝血酶浓度的对数($\lg c$)之间的校正曲线方程为:

$$\frac{\Delta I}{I_0} = -k \lg c + b$$

2.2 葡萄糖的测定

基于锗酸铜(CuGeO_3)纳米线和葡萄糖氧化酶(GOx)修饰的玻璃碳电极(GCE)生物传感器测定葡萄

糖的实验中, 结果表明, GCE 对葡萄糖的氧化具有良好的电催化作用, 且电流信号与葡萄糖浓度成负相关关系, 如图 5 所示^[5]。

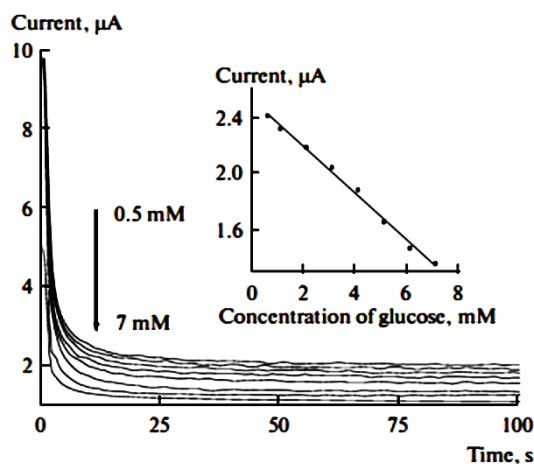


图 5 电流与葡萄糖浓度的关系曲线

3 结语

显然, 当测定信号与被测物质浓度成负相关关系时, 随着被测物质浓度的增大, 测定信号将减小。然而, 检出限的物理意义应是检测到的信号非常微弱时所对应的被测物质的浓度, 而此时恰恰相反, 当检测到的信号很微弱时所对应的被测物质浓度却很大, 故, 不可能是检出限。另外, 在这种情况下会使我们得出错误的结论, 即试剂空白的噪音信号或其标准偏差越大, 检出限越低, 分析方法的灵敏度越高。反之, 若用经典方法测定检出限, 当被测物质浓度很低时, 信号很大, 众所周知, 多个大信号数据的标准偏差必然很小, 将人为地降低分析方法的检出限, 提高分析方法灵敏度。而对于类似的新兴分析方法而言, 结果正好相反, 将使分析方法的检出限增大, 灵敏度降低。因此, 对于测定信号与被测物质浓度成负相关关系的分析方法, 有必要重新审视其检出限的物理意义, 并确定统一的、正确的、无歧义的测定方法。

参 考 文 献

- [1] IUPAC. *Pure and Applied Chemistry*, **1976**, 45, 107.
- [2] 化学名词审定委员会. 化学名词. 北京: 科学出版社, 1991: 46.
- [3] IUPAC. *Compendium of Analytical Nomenclature*. 分析术语纲要, 1998.
- [4] Zhang, W.; Shi, Y.; Zheng, S.; Liu, Y.; Huang, C. *J. Electroanal. Chem.* **2017**, 784, 85.
- [5] Yong, P.; Li, H.; Xiang, F.; Li, Z. *Russ. J. Electrochem.* **2013**, 49, 642.