

火焰发射光谱法定量测定人血清锂的研究

——附43例广州地区正常成人血清锂含量测定

冼汉隆 姚铭深 骆日新

(化学教研室)

冷松 余斌杰

(第一附属医院内科内分泌科)

提要 采用火焰发射光谱法对人血清锂的定量测定进行了研究。实验表明,溶液中锂的检出限为 $0.4\mu\text{g/l}$,浓度与光密度的关系符合 Lambert-Beer 定律,呈直线正相关($r=0.999995$, $P<0.05$);复管测定变异系数小于2%,批内变异系数2.0~2.7%,批间变异系数3.6%;回收率99.4%。与原子吸收光谱法比较,火焰发射光谱法的灵敏度及重复性均较之为优。43例广州地区正常成人血清锂含量平均为 $29.2\pm 2.4\mu\text{g/l}$,年龄与性别之间均无明显差异。

关键词 血清锂 火焰发射光谱法 原子吸收光谱法

锂(Lithium)是一种碱金属族元素,广泛存在于自然界及生物体内,其在人体含量甚微,用普通化学方法不能检出。近年国外学者根据光谱学原理,用原子吸收光谱和火焰发射光谱技术对人体血锂含量进行研究,并积累了一些资料^[1,2],但迄今,国内尚未见有关正常人血锂含量测定的报道。

为了解人体血清锂含量情况及锂含量变化对生理功能或某些病理过程的影响,我们应用原子吸收/火焰发射分光光度计,对人血清锂含量的定量测定方法进行了探索;在血清锂含量测定过程中,还将原子吸收光谱法与火焰发射光谱法进行了比较。现予报道。

材料与方 法

锂标准溶液的配制 准确称取碳酸锂(上海试剂一厂出品,光谱纯,分子量73.89,批号83-08-03)0.5324克(内含锂0.1000克),以6N HCl 6ml溶解后定量转移至100ml容量瓶内,重蒸馏水加至刻度,摇匀,该溶液即为1mg/ml的锂贮备液,转入100ml塑料瓶,置室温保存备用。

将上述贮备液逐级稀释为0.1000,0.0200,0.0020mg/l,作为用于人血清锂含量测定的标准溶液。在稀释的同时,上述各标准锂溶液均加入相当量光谱纯的氯化钠及氯化钾,使溶液中 Na^+ 浓度为28mEq/l, K^+ 浓度为1mEq/l,以保持其与待测血清标本的一致性,抵消上述离子对测定的影响。

测定仪器条件及方法 测定仪器为日产Hitachi 180—70型原子吸收/火焰发射分光光度计;测定方式选择火焰发射光谱法,测定条件按照该仪器所配电脑提供的标准程序:波长670.8nm,狭缝0.4nm,标准型燃烧头高度7.5;燃烧气体为乙炔,压力0.25kg/cm²;空气助燃,压力1.60kg/cm²。灯能选择1.0;直接用五倍稀释的血清进行测定。

各测定样品均重复测定2次,测定结果由仪器自动记录并算出均值,标准差及变异系数,若同一样品两次测定的变异系数大于2%,则需重新测定。

批内,批间重复性试验及回收实验所用血清均为同一混合血清。回收试验时,每份样品中加入0.1000mg/l标准锂溶液0.200ml,重蒸馏

水加至2.00ml。

研究对象 在广州地区生活五年以上的正常成人43名, 均经病史查询及体格检查未发现重要器官病变, 年龄20~70岁(平均 39.60 ± 13.01 岁), 男20名, 女23名。按年龄分为四组: ①20~岁组11名(男5, 女6); ②30~岁组10名(男4, 女6); ③40~岁组10名(男6, 女4); ④50岁以上组12名(男5, 女7)。全部研究对象的血清锂含量测定均在同一条件下进行。

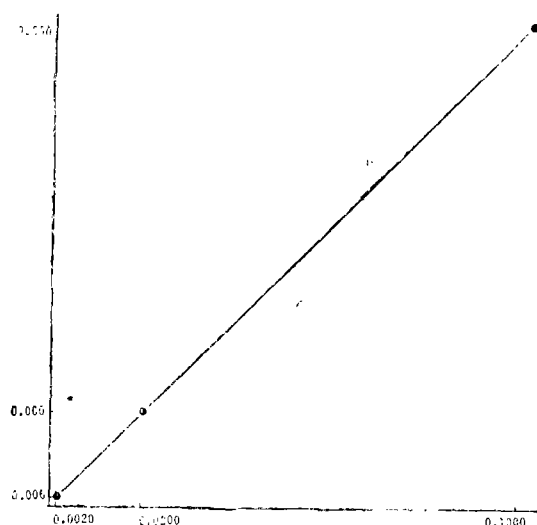
标本采集及处理 采血前禁食12小时, 清晨空腹静脉取血, 分离血清。取0.400ml血清置有盖聚苯乙烯小试管内, 以重蒸馏水稀释至2.00ml, 摇匀, 待测。

结 果

标准溶液与标准曲线 锂标准溶液的浓度与光密度读数呈线性关系, 符合 Lambert-Beer 定律(图1)。若以该标准溶液作为标本进行测定, 则可见其再现性良好, 测定结果的相对偏差小于0.5%(表1)。

批内及批间重复性试验 同一血清样品分三批进行平行试验, 所得测定值列于表2。据

光密度读数



标准溶液浓度 (mg/l) 离

图1 血清锂含量测定标准曲线

测定结果计算, 批内变异系数为2.0~2.7%,

表1 锂标准溶液的有关测定数据(mg/l)

标准溶液	光密度读数	测定值	相对偏差
0.00200	0.006	0.00201	0.5%
0.02000	0.062	0.01996	0.2%
0.10000	0.306	0.09973	0.3%

表2 批内及批间重复性试验(mg/l)

	第一批测定值	第二批测定值	第三批测定值
	0.00588	0.00521	0.00526
	0.00552	0.00525	0.00540
	0.00555	0.00545	0.00541
	0.00562	0.00532	0.00544
	0.00573	0.00515	0.00541
	0.00551	0.00520	0.00561
	0.00587	0.00542	0.00573
	0.00565	0.00523	0.00538
X	0.00567	0.00528	0.00546
SD	0.00015	0.00011	0.00015
CV	2.6%	2.0%	2.7%

批间变异系数为3.6%。

回收试验 血清标本在稀释前加入1000.0mg/l标准锂溶液0.200ml, 然后与同一血清在同等条件下进行测定。前者平均浓度为0.01533mg/l, 后者为0.00542mg/l, 回收率为99.4%(表3)。

稀释曲线 测定锂标准溶液连续稀释后各浓度的光密度, 以其读数为纵座标, 溶液锂浓度为横座标, 绘制稀释曲线如图2; 二者之间呈直线正相关的关系, 相关系数为0.99999994, $P < 0.025$ 。

广州地区正常成人血清锂含量测定结果 43例广州地区正常成人血清锂含量测定的结果见表4。从表中可见, 该组正常成人血清锂含量为 $29.2 \pm 2.4 \mu\text{g/l}$ ($\bar{x} \pm \text{SD}$); 其中20岁组为 $30.2 \pm 2.6 \mu\text{g/l}$, 30岁组为 $28.9 \pm 2.2 \mu\text{g/l}$, 40岁组为 $29.5 \pm 1.7 \mu\text{g/l}$, 50岁以上组为

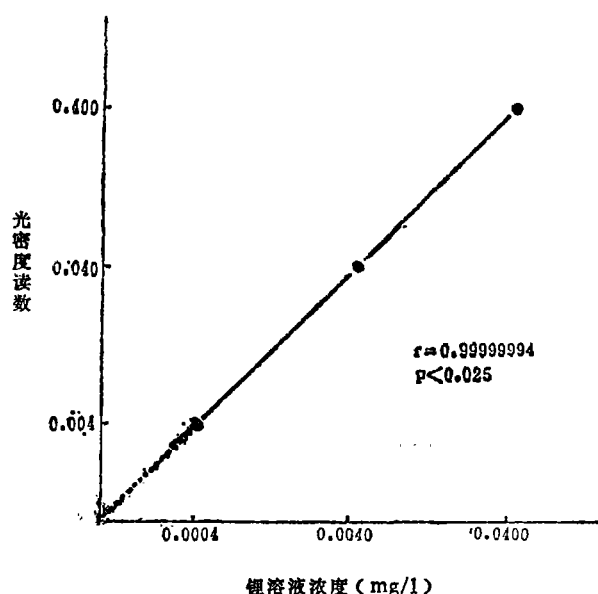


图2 锂溶液浓度与其光密度的相关曲线

28.2 ± 2.7 μg/l; 各年龄组以及性别之间的血清锂含量均无统计学上的差异存在。

火焰发射光谱法与原子吸收光谱法的比较

取不同浓度的锂溶液分别以火焰发射光谱法及原子吸收光谱法(空心阴极 Li⁺ 灯为 Australia 出品, 灯电流强度为 10mA, 灯能 98~102, 其余工作条件同火焰发射光谱法)进行测定, 结果为: 火焰发射光谱法测定 0.4 μg/l 的锂溶液时, 多次重复测定所得读数全完相同, 变异系数均为 0%; 而原子吸收光谱法测定 4 μg/l 锂溶液时, 多次重复测定值的变异系数均大于 8%, 当溶液锂浓度为 10 μg/l 时, 变异系数小于 1%。

讨 论

本研究表明, 用于人血清锂含量测定的火

表3 回收试验的测定结果 (mg/l)

	血清浓度	加入标准	理论值	实测值	回收率
	0.00526	0.01000	0.01526	0.01505	89.6%
	0.00540	0.01000	0.01540	0.01527	99.2%
	0.00541	0.01000	0.01541	0.01533	99.5%
	0.00544	0.01000	0.01544	0.01545	100.1%
	0.00541	0.01000	0.01541	0.01540	99.9%
	0.00561	0.01000	0.01561	0.01549	99.2%
$\bar{X}$	0.00542	0.01000	0.01542	0.01533	99.4%
SD	0.00011	0	0.00011	0.00016	0.54%

表4 广州地区43例正常成人血清锂含量测定值 (μg/l)

	20—	30—	40—	50	male	Female	Total
n	11	10	10	12	20	23	43
$\bar{X}$	30.2	28.9	29.5	28.2	30.0	28.4	29.2
SD	2.6	2.2	1.7	2.7	2.5	2.1	2.4
各年龄组及性别之间							P > 0.05

焰发射光谱法, 其检出限为 0.4 μg/l, 复管测定的变异系数小于 2%, 批内变异系数在 2.0~2.7% 之间, 批间变异系数为 3.6%, 回收率为

99.4%; 被测溶液锂浓度与光密度读数呈直线相关 ($r = 0.999995$, $P < 0.05$); 测定时血清用量仅为 0.400 ml, 标本无需消化处理, 直接

稀释后即可测定。因此认为,本研究用火焰发射光谱法测定人血清锂含量具有灵敏度高,准确可靠,重复性好及简便实用等优点,适用于人体锂含量研究和临床测定的需要,易于推广使用。

采用火焰发射光谱法对广州地区43例正常成人血清锂含量测定的结果为 $29.2 \pm 2.4 \mu\text{g/l}$,各年龄组和性别之间的血清锂水平十分接近,统计学处理无显著性差异。Schroeder和Nason^[3]应用火焰发射光谱法测定人血浆锂浓度,所得结果为 $3.1 \mu\text{g}/100\text{ml}$ ($31 \mu\text{g/l}$);Klaus^[4]亦用同类方法,测得血清锂含量平均小于 $3 \mu\text{g}/100\text{ml}$ ($30 \mu\text{g/l}$);与本研究所得结果相近。

血清锂含量测定较常用原子吸收光谱法及火焰发射光谱法,文献报道^[5],原子吸收光谱法对锂溶液的检出限一般为 $5 \mu\text{g/l}$,火焰发射光谱法的检出限则多在 $0.15 \mu\text{g/l}$ 以下,较前者更为灵敏。本研究的实验数据表明,原子吸收光谱法的检出限在 $4 \mu\text{g/l}$ 以上,而火焰发射光谱法在 $0.4 \mu\text{g/l}$ 以下,与其他作者的实验结果基本一致^[3,6]。正常人血清锂含量测定时,血清标本经上述方法稀释后,其锂浓度往往低于原子吸收光谱法的检出限,对正常人血清锂含量常不能准确测得^[2]。因此认为,对锂浓度极低的正常人血清进行锂含量定量测定,采用火焰发射光谱法较原子吸收光谱法更为适宜。而且,在火焰发射光谱法及原子吸收光谱法各自的检测范围内,用未经消化的血清标本稀释后直接测定锂含量时,前者光密度读数稳定,复管变异系数均在2%以下;但后者出现较大差异,复管变异系数可达10%以上。这种情况其他作者亦曾描述^[6]。一般认为,血清中的锂均呈游离状态,不与蛋白质结合^[7],所以推测,上述情况的出现,可能与血清蛋白质本身对原子吸收光谱这一测定方法的干扰有关,需要加入蛋白质标准品进行校正^[6];但火焰发射光谱测定时则并无此类蛋白质干扰现象;故认为火焰发射光谱法测定人血清锂含量较原子吸收光谱法为优。

在测试过程中值得注意的是,经抽样检查,本研究发现广州地区自来水中锂含量一般在 $3 \mu\text{g/l}$ 左右;因此,在血清锂含量测定的整个实验过程中,所有实验仪器,包括注射器,针头、试管、吸管或取样器等经常规清洁处理后,必须以重蒸馏水反复清洗;样品亦用重蒸馏水稀释,从而避免引入外界含锂物质,保证测定的准确性。另外,有的作者指出,溶液中 Na^+ , K^+ 的存在对锂含量测定可有一定的影响^[8,9];为此,我们在锂标准溶液中加入与待测标本浓度相当的 Na^+ , K^+ ,以保持与血标本实验条件的一致性。

参 考 文 献

- [1] Altman PL, Dittmer DS. Blood and other body fluids. Blood electrolytes: primates. Part I. man. In: Biology Data Book, vol. III, second ed. Bethesda, Maryland: Federation of American societies for experimental biology, 1974; 1751.
- [2] John Pybus, et al, Measurement of serum lithium by atomic absorption spectroscopy. Clin Chem 1970; 16:139.
- [3] Schroeder HA and Nason AP. Trace-elements analysis in clinical chemistry. Clin Chem 1971; 17:461.
- [4] Klaus R. Determination of serum lithium by flame photometry. Z Klin Chem Klin Biochem 1971; 9(2):107. (Ger). (Abstr.)
- [5] 武者宗一郎. Lithium. 分析化学辞典, 东京: 共立出版株式会社, 1971; 1959~1960.
- [6] Levy AL and Katz EM. Comparison of serum lithium determinations by flame photometry and atomic absorption spectrophotometry. Clin Chem 1970; 16(10): 840.
- [7] Marchant B, et al. Antithyroid drugs. Pharmacology. Lithium. In: Hershman JM, Bray GA, eds. The thyroid. Physiology and treatment of disease. Oxford: Pergamon Press 1979; 214.
- [8] Brown PB and Legg EF. Estimation of lithium in serum. Ann Clin Biochem

1970, 7(pt.1):13.

[9] Radu MV, et al. Quantitative determination of blood serum Li, Comparative study

with use of different standardisation curves. Clujul Med 1979, 52(2):149. (Rom.) (Abstr.)

Quantitative Determination of Serum Lithium by Flame Emission Photometry

Xian Hanlong Yiao Mingshen Luo Rixin

(Department of Chemistry)

Leng Song Yu Binjie

(Division of Endocrinology, Department of Medicine)

Abstract

A flame emission photometric method was described for quantitative analysis in serum lithium. It was shown to be a detection limit of $0.4\mu\text{g/l}$. The correlation between the lithium concentration and the optical density was accordance with Lambert-Beer's law. The coefficient of variation in intraassay was less than 2.7% and interassay was 3.6%. The average recovery was 99.4%. In comparison with atomic absorption spectroscopy, the flame emission photometry was more sensitive and precise.

The mean value of serum lithium concentration in 43 normal adults living in Guangzhou district was $29.2 \pm 2.4\mu\text{g/l}$. In the level of serum lithium, the differences between age and sex were no statistical significance.

Key words: Serum lithium Flame emission photometry
Atomic absorption spectroscopy