·检验技术与方法·

离子色谱法测定血清锂离子候选参考方法的建立及性能评估

孙 骥[1],沈 敏[2],屠敏敏[2],吴立山[2△]
(1. 宁波出入境检验检疫局技术中心,浙江宁波 315000;2. 宁波美康生物科技股份有限公司参考实验室,浙江宁波 315104)

摘 要:目的 以离子色谱法为基础,建立血清总锂离子测定的候选参考方法并评价其性能。**方法** 采用一种简单的样本前处理方法,用新鲜患者血清样本、IFCC-RELA 样本等对方法的精密度进行评估;用加标回收实验评价方法的准确性。**结果** 锂离子标准曲线线性方程为:$Y=0.817\ 1X-0.001\ 3$,$r^2=0.999\ 95$,方法的检出限为 6 μg/L;测量血清样本的不精密度(*CV*)小于 1.0%;样本的加标回收率在 99%~101%之间。**结论** 成功建立了血清锂候选参考方法,可用于血清锂离子项目的量值溯源和标准化,为血清锂常规检测系统向参考方法/参考物质溯源提供了有效途径。

关键词:血清锂离子; 离子色谱法; 候选参考方法; 性能评估
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.11.040 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2014)11-1468-02

Development and evaluation of candidate reference method for the determination of lithium in serum based on ion chromatography

Sun Ji[1], *Shen Min*[2], *Tu Minmin*[2], *Wu Lishan*[2△]
(1. *Ningbo Entry-Exit Inspection and Quarantine Bureau, Ningbo, Zhejiang* 315000, *China*; 2. *Ningbo Medical System Biotechnology Co., Ltd. Reference Laboratory, Ningbo, Zhejiang* 315104, *China*)

Abstract: Objective To establish a candidate reference method for the determination of serum lithium based on ion chromatography and evaluate its analytical performance. **Methods** A simple sample treatment procedure, which can be remove the proteins and/or organics in human serum, has been developed for the determination of serum lithium. Method precision was evaluated with different concentration of fresh human serum and EQA sample RELA-A/B. Method accuracy was investigated with the recovery experiments in fresh human serum and RELA-A/B sample. **Results** The linear equation was $Y=0.817\ 1X-0.001\ 3$ with a correlation coefficient of 0.999 95 under the optimum experimental conditions, the detection limit (3S/N) for lithium was 6 μg/L and the imprecision was less than 1.0%. The results of the recovery experiments indicated that the recoveries were reasonable for the determination of serum lithium, in a range of 99%-101%. **Conclusion** The candidate reference method of lithium was successfully established and which can be used for traceability and standardization. It may provide an effective way for routine testing of lithium traceable to the reference method/reference material.

Key words: serum lithium; ion chromatography; candidate reference method; performance evaluation

锂对中枢神经有调节作用,适量的锂能有效地稳定情绪,如碳酸锂治疗狂躁型抑郁症有较好的效果。但碳酸锂治疗的有效浓度较窄,且个体吸收差异较大,临床上易发生毒副作用。故准确地测定锂浓度对评价和监测精神抑郁症疗效有重要意义[1]。血清锂的测定方法主要有火焰原子吸收光谱法(FAAS)[2]、离子选择性电极法(ISE)[3]、同位素稀释热电离质谱法(ID-TIMS)[4]等。其中,ISE 因价格便宜、灵敏度高、准确性好而广泛应用于临床分析。检验医学溯源联合委员会(JCTLM)公布的血清锂参考方法是 FAAS 和 ID-TIMS。ID-TIMS 法具有极高的准确性和灵敏度,但运行成本较高,一般实验室难以完成。而 FAAS 的灵敏度和稳定性受燃气的质量及火焰影响较大,结果不够稳定。因此,本研究基于离子色谱法,试图建立一种特异性高、精密度好、准确度高和抗干扰能力强的血清锂测定候选参考方法,以期为常规检测系统向参考系统溯源提供新的方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试剂 氯化锂标准物质(纯度 99.998%)、高纯浓硝酸(纯度 99.999%)、甲基磺酸(纯度 99%)等均购自 Sigma 公司,实验室用水为 Milli-Q 水。

1.1.2 仪器 Dionex ICS 1100 型离子色谱仪,配 CSRS 300 抑制器;Ion Pac CS12A 阳离子交换柱和 Ion Pas CG12A 保护柱;Chromeleon 7.1.2 色谱工作站;XS205DU 型分析天平(METTLER TOLEDO, Switzerland);Milii-Q 纯水仪(Millipore, Japan);Eppendorf 移液器(Eppendorf AG, Germany);德国 VITLAB PFA 材质 A 级容量瓶;0.45 μm 针筒式滤膜过滤器(Millipore,货号 SLLHC13NL)等。

1.2 测定方法 淋洗液:15.4 mmol/L 甲基磺酸溶液;流速:1.0 mL/min;进样量:25 μL;采集时间 30 min;电导检测;外标法峰面积定值。

1.3 样本前处理方法 准确移取 1.0 mL 的血清样本放入 25 mL 的锥形瓶中,再移取 2.0 mL 的 HNO_3,放置过夜后在电热板上加热消化,蒸至近干,最后用 0.2%的稀硝酸溶解定容 25 mL。样本空白采用 0.5 mL Milli-Q 水代替血清,按照上述步骤处理。

1.4 统计学处理 数据处理在仪器配套的 Chromeleon 7.1.2 色谱工作站上完成。

2 结 果

2.1 方法的线性及检出限 在优化的色谱条件下,将配制好的锂离子标准工作液按浓度从低到高逐一进样,以进样浓度为横坐标,色谱峰面积为纵坐标,绘制标准曲线,实验结果见图 1。由图 1 可知,锂标准曲线的线性方程为 $Y=0.817\ 1X-$

作者简介:孙骥,男,工程师,主要从事分析化学研究。 △ 通讯作者,E-mail:wulishan@163.com。

0.001 3，r^2=0.999 95。根据图 1 中锂离子的色谱峰峰型分析可知，锂离子色谱峰的不对称度为 1.18 左右。根据 3 倍信噪比(S/N=3)计算锂离子的检出限，得出仪器对锂离子的检出限为 6 μg/L。

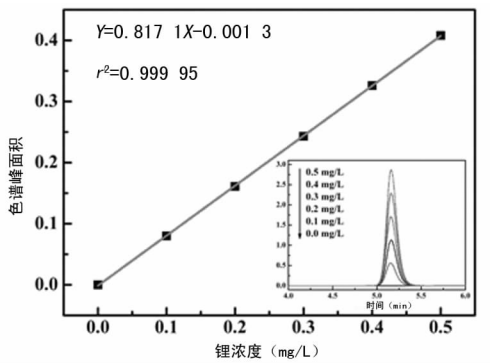

图 1　锂离子标准曲线

2.2 精密度实验　根据 1.3 方法处理 3 个不同浓度梯度的新鲜血清样本，每个浓度梯度做 3 份平行(如图 2 所示)。实验结果表明，不精密度(*CV*)均小于 1.0%。

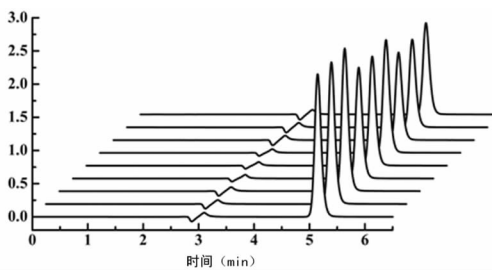

图 2　血清样本的精密度实验

2.3 样本测定及加标回收实验　根据 1.3 方法处理新鲜血清样本和 2012 年 IFCC-RELA 样本，测定结果如表 1 所示，样本的色谱图如图 3 所示。结果表明，新鲜血清样本中未检测出锂离子，原因是正常血清样本中锂离子浓度低于方法的检出限。加标回收实验表明，锂离子的平均回收率在 99%～101%之间，说明该方法是可靠的。

表 1　血清锂离子测定结果(n=3)

样品	原浓度 ($\bar{x}\pm s$, mg/L)	加样浓度 (mg/L)	检测浓度 ($\bar{x}\pm s$, mg/L)	回收率 (%)
空白血清	—	15.00	14.958±0.138	99.72
RELA-A	5.841±0.016	15.00	20.821±0.156	99.87
RELA-B	9.565±0.071	15.00	24.592±0.194	100.18

—：未检出。

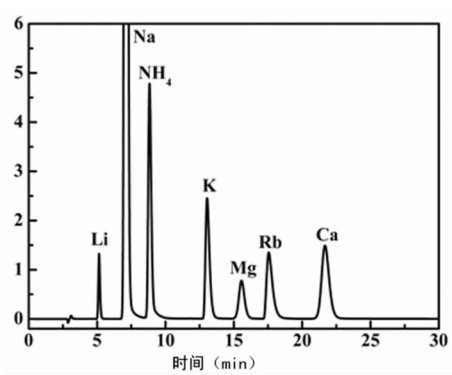

图 3　血清样本色谱图

3　讨　论

目前，临床检验中血清锂项目一般采用全自动生化分析仪或电极法进行测定，尽管检测效率和精密度得到了很大程度的提高，但检测结果的准确性和可比性仍有待改进。ID-TIMS 具有极高的准确性和精密度，被认定为血清锂测定的决定性方法。但该方法运行成本较高，一般实验室难以完成。因此，有必要建立准确性和精密度次于决定性方法，但仍具有较高的准确度和有效性，同时又便于操作的参考方法用于血清锂常规检测结果的量值溯源。本研究以离子色谱法为基础，建立了血清锂测定的候选参考方法。

参考方法的建立需要对各种主要影响量进行评估确认，仪器的检测性能、样本前处理方法和严格规范的操作是关键因素。在优化的色谱条件下，锂离子出峰时间最早(约为 5.1 min)且与最近的钠离子色谱峰出现时间相差 2.0 min 以上。锂离子和钠离子之间的分离度约为 7.7，完全可以做到基线分离。相对于其他离子，仪器对锂离子的检出限较低，为 6 μg/L。因此，离子色谱可以非常准确而灵敏地测定锂离子。

样本前处理方法对检测结果是一项至关重要的影响因素，血清中的蛋白质不仅会与钙、镁离子形成络合物影响测定，还会对仪器(包括分析柱和抑制器)造成不可修复的损伤。要准确地测定血清中的阳离子，就必须消除蛋白质的干扰。Thienpont 等[5]采用简单的稀释法和稀酸加热法处理血清样本，但并不能消除蛋白对测定的影响。本研究采用简单的湿法消化将蛋白质消解成无机物和氨基酸，蛋白质被消解成小分子后就不会与金属离子发生作用而影响测定，也不会对仪器造成损伤。

为了避免样本处理过程中待测离子的损失，所有玻璃器皿必须经 10%的稀硝酸浸泡 24 h 以上。容量瓶应选择聚四氟乙烯材质的，以避免硅羟基与金属离子发生氢键作用造成离子损失。为了进一步改进实验方案，本组建议采用 Rb 作为内标物，通过内标法对金属离子进行定量。这样可避免在样本前处理过程中损失而造成结果的不准确。该方法正在进一步研究中。

综上所述，以离子色谱法为基础，血清锂离子测定候选参考方法已基本建立。该法具有特异性高、精密度好、准确度高的特点，可用于常规检测系统检测结果的正确度评估，为血清锂离子检测溯源体系提供便捷而有效的方法。

参考文献

[1] Linko S. Automated ion-selective measurement of lithium in serum. A practical approach to result-level verification in a two-way method validation[J]. Accredit Qual Assur, 2001, 6(1): 31-36.

[2] Sampson M, Ruddel M, Elin RJ. Lithium determinations evaluated in eight analyzers[J]. Clin Chem, 1994, 40(6): 869-872.

[3] Bertholf RL, Savory MG, Winborne KH, et al. Lithium determined in serum with an ion-selective electrode[J]. Clin Chem, 1988, 34(7): 1500-1502.

[4] Phinney CS, Murphy KE, Welch MJ, et al. Definitive method certification of clinical analytes in lyophilized human serum: NIST Standard Reference Material (SRM) 909b[J]. Fresenius J Anal Chem, 1998, 361(2): 71-80.

[5] Thienpont LM, Van Nuwenborg JE, Stäckl D. Ion chromatography as reference method for serum cations[J]. J Chromatogr A, 1997, 789(1): 557-568.

(收稿日期：2014-01-22)