

スペクトラスパン・プラズマ発光分光光度計による 血清リチウムの定量

御 船 政 明

岡山大学医学部附属病院三朝分院中央検査部

(分院長: 森 永 寛 教授)

(1980年1月18日受付)

1. 緒 言

近年精神科領域で躁うつ病の予防あるいは治療の目的でリチウム塩が使用されるようになった。リチウム中毒を予防し、適当量を継続投与するためには、患者の臨床症状を観察しつつ定期的に血清リチウム濃度を測定する必要がある(渡辺ら, 1974)。血清リチウム濃度の測定については、LEHMANN (1968)、LEVY ら (1970)、PYBUS ら (1970)、DENSWILL ら (1972)、ROBERTSON ら (1973)、前畑ら (1974)、松下ら (1975)、清瀬ら (1976) など蛍光分析法 (以下 F. P. 法と略す) および原子吸光分析法 (以下 A. A. 法と略す) による多数の報告がある。LEVY (1970) は「血清中のリチウムを定量する際に F. P. 法を用いても A. A. 法を用いても同様な結果が得られるが、F. P. 法は A. A. 法に比べて感度がよく、希釈した血清中のリチウムの測定が可能であり、血清蛋白による影響をうけ難い利点があるが、血清中のアルカリ金属イオンことに Na^+ による影響を受け易い」と述べている。A. A. 法を用いて血清リチウムを測定する際、LEHMANN (1968) は 0.1N-塩酸を用いる単純希釈法を採用しているが、この方法の際にはバーナーの目づまりを起し、精度のよい測定値が得られない。松下ら (1973) は、血清蛋白による影響を除くためトリクロール酢酸除蛋白法を用い、さらにナトリウムなどによる光散乱の影響を考慮して標準添加法を使用し、血清リチウムを定量している。

著者はスペクトラスパン・プラズマ発光分光光度計を使用して血清リチウムの定量を試みた。この発光分光光度計(御船, 1978)は、1) 分解能のすぐれた光学系を備え、しかも測定可能な波長範囲が広いこと、2) ホローカソードランプを使用しないで、一部の非金属元素(例えばホウ素)を含む全金属元素の定性および定量分析が可能なこと、3) 発光分光分析法ではあるが液体試料を使用するため、試料の調製が容易であること、4) 定量分析に際しては光電測光法が使用できること、などの

特徴がある。

2. 試薬および装置

2.1 試薬

2.1.1 精製水: 脱イオン蒸留水を用いた。

2.1.2 保存標準液 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$; Li): 原子吸光分析用 (LiCl, Li 1000 ppm, 和光純薬) を精製水を用いて 10 倍希釈して調製する。

2.1.3 使用標準液 (Li, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00, 10.00 $\mu\text{g}/\text{ml}$): 保存標準液を精製水で希釈して作る。

2.1.4 Na, K, Mg, Ca のそれぞれ 25, 50, 100, 250 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の標準液: 原子吸光分析用 (Na, K, Mg, Ca の夫夫 1000 ppm 溶液; 和光純薬) を精製水で希釈して作る。

2.1.5 その他 30% 過酸化水素水は三菱ガス化学特級試薬を、硝酸および塩酸は和光純薬特級試薬を用いた。なお低温灰化の際には、市販の圧縮酸素を、スペクトラスパン・プラズマ発光分光光度計による発光分析に当っては、噴霧およびコントロールガスとして高純度アルゴン (99.99%) を使用した。

2.2 分析装置

2.2.1 低温灰化装置 IPC 社の 1003 B 型低温灰化装置を使用した、本装置を使用すれば一度に 8 検体の灰化が可能である。

2.2.2 スペクトラスパン・プラズマ発光分光光度計 II 型 (以下スペクトラスパンと略す) を用いた。

2.2.3 原子吸光分光光度計 日立原子吸光分光光度計 207 型を使用した。

3. 定量操作

基本となる定量操作は、実験結果 4.2; 4.3; 4.4; 4.5 の結果から次のように定めた。

まず低温灰化用パイレックス硝子製試料皿に血清 1.0 ml を入れ、30% 過酸化水素水 1.0 ml を加えて弱く加熱して蒸発乾燥後、試料皿を低温灰化装置内に入れ、低

Table 1 The process of serum treatment

Serum	1.0 ml	
↓		
Pyrex sample dish		
↓		
	+ 30% -H ₂ O ₂ sol.	1.0ml
↓		
Evaporation by weak heating		
↓		
Low temperature ashing		
↓		
	Rf power	200 w
	Oxygen flow	200ml/min.
	Ashing hours	3hrs.
↓		
	+ 0.05N-HCl	5.0ml
↓		
Sample sol.		

Table 2 The sample preparation for standard addition method

Sample sol. (ml)	1.0	1.0	1.0
H ₂ O (ml)	1.0	0.0	0.0
Li2.00μg/ml sol. (ml)	0.0	1.0	0.0
Li4.00μg/ml sol. (ml)	0.0	0.0	1.0
Total (ml)	2.0	2.0	2.0

温灰化（高周波出力 200 W，酸素流量 200 ml/min，灰化時間 3時間）を行い，次に 4 N 塩酸 2.0 ml を加えて灰分を溶解後，弱く加熱して蒸発乾固させて塩酸を除き，更に 0.05 N 塩酸 5.0 ml を加えて蒸発残渣を溶解させ，発光分析用試料とする（Table 1）。

血清リチウムをスペクトラスパンで定量するため，Table 2 の内容によって標準添加法用の試料を作り，Table 3 に示す条件下で分析を行う。

4. 実験結果

4・1 測定条件 リチウム標準液（4.0 μg/ml）を用い，測定波長，アルゴン流量，試料溶液の流量，光電子増倍管の電圧などについて検討した。最適条件は Table 3 に示す如くで，血清リチウムの測定はこの条件に従った。

4・2 塩酸および共存イオンの影響 試料調製に当

Table 3 Working conditions for lithium determination

Sample	Serum
Element	Li
Wavelength	670.8 (nm)
Slit	Width Height
Entrance	200×200 (μm)
Exit	100×200 (μm)
Argon flow rate	
Nebulizer	7.0 (SCHF)
Electrodes	3.5 (SCHF)
Sample uptake	0.6 (ml/min.)
Plasma jet current	7.5 (A)
PMT voltage	700 (V)
Amplifier range	10 ×
Full scale	30 %
Digital meter range	15 %
Time constant	3
Recorder	
Range	10 (mv)
Speed	5 (mm/min.)

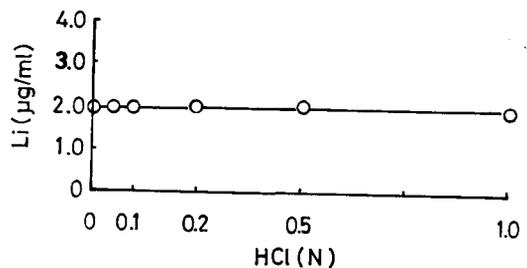


Fig. 1 The effect of hydrochloric acid

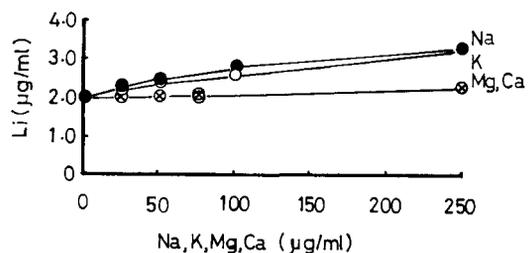


Fig. 2 The effects of several metallic ions

て Table 1 の手順に従って低温灰化後，0.05 N 塩酸に溶解して試料溶液とするため，塩酸による発光強度への

影響について検討した結果, Fig. 1 に示す如く 0~1.0 N の濃度範囲では塩酸の影響は認められない。

Li 2.0 μ g/ml 液に Na⁺, K⁺, Mg²⁺, Ca²⁺ のそれぞれ 0, 25, 50, 100, 250 μ g を添加し, これらイオンのリチウム測定時の発光強度への影響をくらべると, Fig. 2 に示す如く Na⁺, K⁺ による影響は顕著であったが, Mg²⁺, Ca²⁺ による影響は著しくなかった。血清リチウムをスペクトラスパンで定量する場合, Na⁺, K⁺ などによる影響を避けるため標準添加法によって分析を行うことにした。

4・3 検量線 Table 3 の測定条件によって分析して得られるリチウム濃度と発光強度との関係は, Fig. 3 に示す如く, リチウム濃度が 0~10 μ g/ml の範囲で直線関係が成立する。

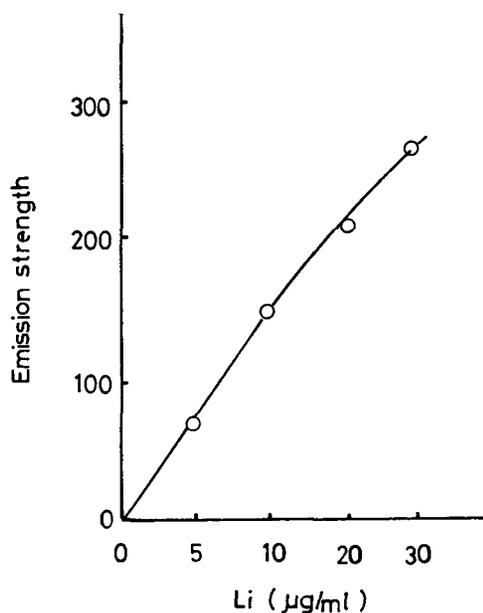


Fig. 3 Calibration curve for lithium

4・4 灰化条件の検討. 血清の低温灰化に当ってその最適条件を決定するため, 高周波出力, 酸素流量, 灰化時間などについて検討した。まずパイレックス製試験皿に血清 1.0ml を入れ, 次にリチウム 25 μ g を加え, Table 1 の手順に従って低温灰化および塩酸による処理を行い試料溶液を調製した。これらの試料についてスペクトラスパンを用いてリチウムを測定した結果は, Table 4 の通りで, 最適灰化条件は高周波出力 200 W,

Table 5 Precision, coefficient of variance and recovery of lithium added to the normal serum

Serum	Li (μ g)			Recovery (%)
	Added	Found	Difference	
1	5.00	5.10	+0.10	102.0
2	5.00	4.95	-0.05	99.0
3	5.00	4.95	-0.05	99.0
4	5.00	4.95	-0.05	99.0
5	5.00	5.10	+0.10	102.0
6	5.00	5.00	0.00	100.0
7	5.00	5.20	+0.20	104.0
8	5.00	5.00	0.00	100.0
9	5.00	5.00	0.00	100.0
10	5.00	5.10	+0.10	102.0
11	5.00	4.95	-0.05	99.0
12	5.00	5.20	+0.20	104.0
Mean	5.04	+0.04	100.8	
Std. dev.: 0.093 μ g/ml				
CV: 1.85 %				

Table 4 Low temperature ashing for lithium determination in serum and recovery rates

Lithium added (μ g/ml)	Serum used (ml)	Rf power (W)	Oxygen flow rate (ml/min.)	Ashing hours (hr.)	Recovery rates (%)
25	1.0	100	100	6.5	99.6
25	1.0	150	150	4.0	96.0
25	1.0	200	200	3.0	100.0
25	1.0	300	300	2.5	93.0

Table 6 Comparison of serum lithium concentrations measured by spectraspan plasma emission and atomic absorption spectrophotometer

Serum	Spectraspan plasma emission spectrophotometry ($\mu\text{g/ml}$)	Atomic absorption spectrophotometry ($\mu\text{g/ml}$)
1	4.8	4.8
2	7.2	7.2
3	9.6	9.4
4	15.0	15.2
5	4.2	3.9
6	5.8	5.5
7	8.1	7.8
8	0.5	0.6
9	1.2	1.1
10	3.0	3.0
11	5.0	5.2
12	7.2	7.1
13	9.2	9.3
14	2.3	2.1
15	4.4	4.1
16	8.3	8.4
17	10.7	10.9
18	1.9	1.7
19	4.0	3.1
20	6.9	6.5
21	8.0	6.9
22	3.0	2.5
23	5.6	4.9
24	10.4	10.4

酸素流量 200 ml/min., 灰化所要時間は 3 時間である。
 4・5 回収実験および精度 血清 1.0 ml にリチウム 5.0 μg を添加し, Table 1 に示す手順に従って試料を調製し, さらに Table 2 に示す内容の標準添加法の試料溶液を調製し, Table 3 の測定条件に従ってリチウムを測定した際の回収率は, 99~104 % (平均, 100.8 %) で, 清瀬ら (1976) の A. A. 法による回収率 102.5 % (平均 105.5 %), F. P. 法による回収率 100.0~117.0 % (平均 105.2 %) に匹敵する。スペクトラスパ

ンによる標準偏差 (S. D.) は 0.093 $\mu\text{g/ml}$, 変動係数 (C. V.) は 1.85 % で, 前述の清瀬らの A. A. 法による C. V. 0.95 %, F. P. 法による C. V. 1.33 % より少し劣るが, 実用上支障はないと考えられる (Table 5)。

4・6 発光分析法と原子吸光分析法との相関 血清に任意の量のリチウムを添加し, 上述の処理を施して作った試料をスペクトラスパンと原子吸光分光光度計とを用いて測定を行った所, $\gamma=0.99$, $Y=0.97X+0.36$, n

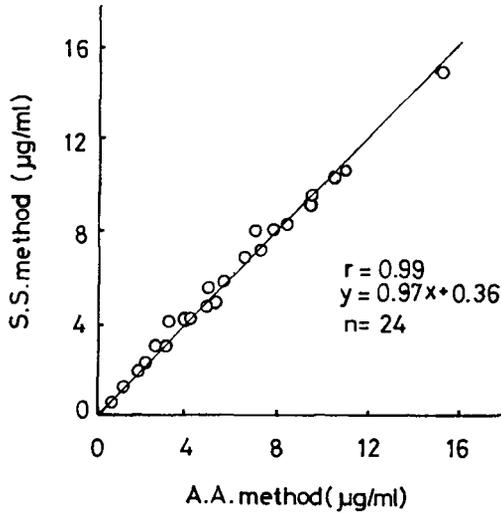


Fig. 4 Correlation between the results obtained by the Spectraspan (S.S.) method and by the atomic absorption (A.A.) method

=24, で、両方法による測定値間に正の相関関係が認められた (Table 6), (Fig. 4).

考案ならびに結語

血清リチウムの測定には F. P. 法あるいは A. A. 法が用いられ、分析用試料調製のための前処理方法として単純希釈法、トリクロール酢酸による除蛋白法、有機溶媒による抽出法などがあげられる。

著者は小電流直流形のプラズマ発光分光光度計の一種のスペクトラスパン・プラズマ発光分光光度計Ⅱ型を使用して血清リチウムの定量を試みた。まず血清に含有されるアルカリ金属元素、アルカリ土類元素のリチウム測定時の発光強度への影響について検討し、Na⁺, K⁺ による影響の大きいことを認めたので、低温灰化後標準添加法によってリチウムの定量を行った。著者の方法による回収率は 99.0~104.0% (平均 100.8%), C. V. は 1.85% で、F. P. 法あるいは A. A. 法の回収率にほぼ匹敵する。次にスペクトラスパン法と A. A. 法とによる測定値の間には、正の相関関係、 $r = 0.99$, $Y = 0.97X + 0.36$, $n = 24$ が成立した。

従って血清リチウムの定量法としてスペクトラスパン法は F. P. 法或は A. A. 法と同様臨床検査上有用な分析方法であると思われる。

なお本研究の一部は、第 23 回日本臨床病理学会総会 (昭和 51 年 10 月) において発表した。

文 献

DENSWILL E.H. and DETMERS J. P. (1972) Acetone as solvent in flame photometric determination of lithium in serum, *Clin. Chim. Acta*, **40**, 129-131.

清瀬 鬨, 前畑英介 (1976) リチウム測定法, 臨床検査, **20**, 793-798.

LEHMANN, V. (1968) Direct determination of lithium in serum by atomic absorption spectroscopy, *Clin. Chim. Acta*, **20**, 523-529.

LEVY L. L. and KATZ E. M. (1970) Comparison of serum lithium determination by flame photometry and atomic absorption spectrophotometry, *Clin. Chem.* **16**, 840-842.

前畑英介, 叶田友紀子, 平井智子, 中 甫 (1974) 炎光及び原子吸光法による血清リチウム測定法の検討, 衛生検査, **23**, 779-782.

松下兼介, 河野一成, 小城次郎, 松本 啓 (1973) 原子吸光光度計による血清リチウムの直接測定法, 九州神経精神医学, **19**, 136-139.

松下兼介, 河野一成, 小城次郎, 児玉祐一, 松本 啓 (1975) 原子吸光光度計による血清リチウムの直接測定法, 臨床検査, **19**, 636-638.

御船政明 (1978) スペクトラスパン・プラズマ発光分光光度計の温泉化学領域への応用, 温泉工学, **12**, 105-118.

PYBUS J. and BOWERS G. N. Jr. (1970) Measurement of serum lithium by atomic absorption spectroscopy, *Clin. Chem.* **16**, 139-143.

ROBERTSON R., FRITZE K. and GROF P. (1973) On the determination of lithium in blood and urine, *Clin. Chim. Acta*, **45**, 25-31.

渡辺昌祐, 石野博志 (1974) 感情障害とリチウムイオン, 精神医学, **16**, 1028-1052.

DETERMINATION OF LITHIUM IN SERUM BY EMISSION SPECTROPHOTOMETRY USING "SPECTRASPAN"

By Masaaki MIFUNE (Director: Prof. Hiroshi MORINAGA)
 Misasa Branch Hospital of Okayama University,
 Misasa-spa, Tottori-ken, Japan

Abstract: Lithium in serum was determined by a plasma emissionspectrophotometer "Spectraspan" (low power d.c. plasma arc, operating on argon). The optimum condition for ashing of serum by low temperature was studied. The influences of hydrochloric acid and several metallic ions (Na, K, Mg, Ca) on emission intensity were examined. There was a linear relationship between emission intensity and lithium content from 0 to 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

Lithium in serum was easily determined by standard addition method. Precision, coefficient of variance and recovery of known amount of lithium added to the sample for 12 replicate analyses were 0.093 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 1.85 %, 99-104 %, respectively. Significantly positive relationship was observed between emission spectrophotometry using spectraspan and atomic absorption spectrophotometry.