

$^{13}\text{CO}_2$ 呼气试验的质谱测定方法

张维成 曾文炳

(中国科学院近代物理研究所, 兰州)

关键词 呼气试验, 测定, ^{13}C , 质谱分析.

一、引言

近十多年来, 稳定核素作为一种研究和诊断工具在医学、生物学中的应用进入新的高潮, 应用领域不断扩大, 技术迅速提高。不少的资料表明, $^{13}\text{CO}_2$ 呼气试验对一些重要疾病的诊断有较好的结果和较大的潜力, 其中用于肝功能测定的呼气试验尤其令人瞩目, 很可能发展成为一种新型的临床检验方法, 它能直接反映出正常肝细胞的数量和功能。

$^{13}\text{CO}_2$ 呼气法是收集人体呼出的 CO_2 气体, 测定 $^{13}\text{CO}_2$ 与 $^{12}\text{CO}_2$ 的同位素比值, 根据摄入 ^{13}C 标记化合物前后所采样品之间同位素比值的差异来判断病症和病情。本文报道了采用美国Finnigan-MAT公司的MAT-251型气体同位素质谱计测定呼气样品的方法, 对80多例肝脏病人呼气试验样品进行测试, 结合临床诊断, 其结果是令人满意的。此方法同样适用于其它病症研究中的 ^{13}C 标记物呼气试验。

二、实验方法

1. 样品制备

将受试者服药后呼出气体收集在塑料袋中, 取一定量的气体送入纯化装置^[1]进行纯化(图1)以除去呼气中的水份、氧和氮等杂质。

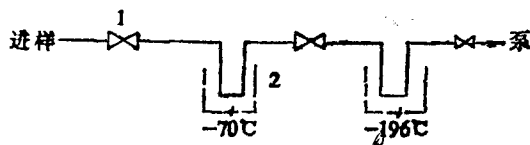


图1 CO_2 呼气气纯化装置示意图

1——活塞; 2——冷阱。

先用收集到的气体将系统管道冲洗一下, 抽真空使系统处于低真空 (7.5×10^{-1} Pa) 状态, 再通入呼气, 先经液氮和酒精混合物的冷阱除去水份, 再经液氮冷阱使 CO_2 固化, 并由机械泵抽除其它气体, 固化的 CO_2 收集在接样管中, 送去进行质谱测定。

2. 质谱测定

通过测定呼出气体中的 $^{12}\text{CO}_2$ 和 $^{13}\text{CO}_2$ 质谱双线, 确定 $^{13}\text{CO}_2$ 含量的变化情况, 研究代

1989年2月26日收到, 1989年9月26日收到修改稿。

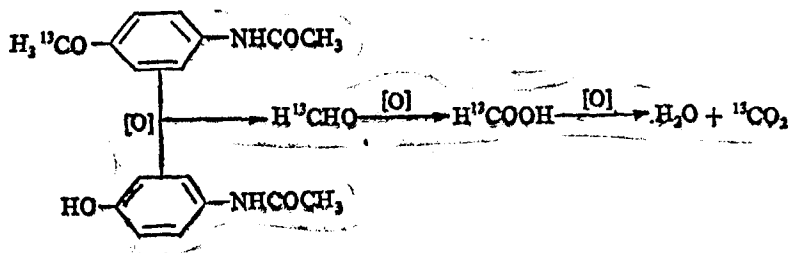
谢机理和诊断疾病。所用MAT-251质谱计的分辨率为212, 灵敏度为0.3A/mbar, 丰度灵敏度为 1.1×10^{-6} (对 CO_2 而言), 精度(外复现性)为0.03%, 调节发射电流0.6mA和电子能量104eV后, 固定进样压力。进样后, 用计算机在两个法拉第杯接收器上, 同时采集质量数为44和45两束离子流强度的数据, 通过计算给出45/44的 δ 值。 δ 值的含意是:

$$\delta = \frac{(^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2)_{\text{样品}} - (^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2)_{\text{标样}}}{(^{13}\text{CO}_2/^{12}\text{CO}_2)_{\text{标样}}} \times 1000\%$$

为保证测量的精度, 每次进样至少连续测定6次, 按文献[2]所讲述的测量数据处理方法, 分析测量误差并给出被测 δ 的数值。

3. 时相曲线的绘制

采用 $^{13}\text{CO}_2$ 呼气试验诊断肝病是基于肝脏对外源性物质如药物、染料的代谢, 可供临床评价肝脏的代谢能力, 估计肝病的严重程度。基本肝细胞微粒体中含有混合功能氧化酶系统, 并能进行O-位及N-位脱甲基作用。 ^{13}C 的标记物——美沙西汀中含有 ^{13}C 的甲基, 可被氧化成 $^{13}\text{CO}_2$ 出现在呼气中, 测定呼气中 $^{13}\text{CO}_2$ 的变化, 反映了体内酶所催化的氧化反应的速度及程度, 从而了解肝脏的功能, 其过程如下:



在一定的时间内, 每隔一定的时间间隔, 收集一定量的呼气, 测定 δ 值。通常一个人做一例完整的呼气试验需采样8个, 其中1个为空白样, 7个为摄取 ^{13}C 标记物后经不同时间间隔所采的样, 这样就可测得8个不同的 δ 值。以 δ 值为纵坐标, 时间 t 为横坐标, 绘制 $^{13}\text{CO}_2$ 排出特征曲线(即时相曲线)示于图2。

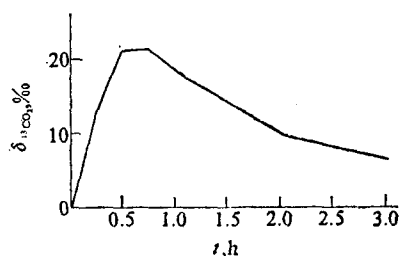


图2 δ 值变化的时相曲线

医学上就根据图中曲线形状, 计算出各种参量(峰值、出峰时间、消除速度常数 λ 、吸收速度常数、2h排出量以及2h排出量乘以 λ 等^[3]), 作为临床诊断的定性定量的依据。

三、实验结果与讨论

1. 测量精度

将收集到的纯 CO_2 气体重复输入质谱计进行测定, 结果列入表1。

^{13}C 稳定核素在自然界处于交换平衡状态, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ 之比值因产源不同而稍有不同, 平

表1 呼气样一次纯化多次进质谱计测定结果

进样顺序号	1	2	3	4	5	6	7
δ 值*(相对于钢瓶气), ‰	0.599	0.604	0.592	0.594	0.599	0.605	0.588
δ 平均值, ‰	0.599±0.004						

*根据文献[2]分析所获取的数值得: ①剔除第7个数据后6个数据中不再有异常数据; ②未发现累进性和周期性系差。

均值为 $1.10 \pm 0.03\%$ 原子。在呼气试验中, 未服 ^{13}C -美沙西汀标记药物时, ^{13}C 的丰度一般在 1.151% 原子左右, 而服标记药物后, 其变化范围大体在 1.1508 — 1.1793% 原子之间, 这就要求同位素质谱计的丰度灵敏度在 10^{-6} 量级, 而呼气试验中不同样品之间 δ 值差值通常大于 1% , 其系统不确定度亦大于 1% , 在表1中测得 δ 数值的不确定度为 0.004% , 所以此质谱计测量精度足够满足呼气试验中的测试要求。

2. 制样方法的可靠性

(1) 将正常人呼出的气体多次重复制样, 把每次制样得到的纯 CO_2 输入质谱计进行测定, 结果列入表2。

表2 呼气样多次纯化后分别进质谱计测定结果

纯化样品顺序号	1	2	3	4	5	6
δ 值*(相对于钢瓶气), ‰	-1.809	-1.815	-1.905	-1.950	-1.931	-1.768
δ 平均值, ‰	-1.873±0.060					

*根据文献[2]分析所测的数据得: ①6个数据中不存在异常数据; ②未发现累进性和周期性系差。

(2) 将人体呼出气体纯化后分多次取样输入质谱计测定, 结果列入表3。

表3 呼气样纯化后分多次取样进质谱计测定结果

取样顺序号	1	2	3	4	5	6	7	8
δ 值*(相对于钢瓶气), ‰	-2.829	-2.975	-2.616	-2.754	-2.604	-2.692	-2.674	-2.928
被测 δ 值‰	-2.695±0.069							

*根据文献[2]分析所测的数据得: ①8个数据中在剔除第2,8两个数据后的6个数中不存在异常数据; ②发现有累进性系差, 但不存在周期性系差。

由表2,3可见, 采用不同制样方法测得 δ 值, 其不确定度优于 0.07% , 仍能满足呼气试验的要求。

3. 关于测定呼气试验样品的标准问题

实验表明使用钢瓶装 CO_2 作标准参考气体是很理想的。这不仅由于它的价格便宜、操作方便、稳定性好, 更重要的是它与人体呼出气空白样(未服标记药物时的呼气)的丰度值十分接近, 从而减少了测量误差。我们从兰州地区30多人的人群中测得正常人呼出气空白样 δ 值(相对于PDB标准)在 -20.864 — -26.325 之间, 而所使用的钢瓶中 CO_2 气体的 δ 值(相对于PDB标准)为 -23.711 ± 0.062 , 正好处在这个范围内, 可以免去使用难以获得的同位

素标准。国外也有采用正常人呼出气空白样作标准的^[1]，但远不如使用钢瓶CO₂气筒便。实际上我们只对呼气样品之间 δ 差值感兴趣，并不需要准确测定每个样品的丰度值。换言之，我们测试时并不需要有一个已知丰度的标准样品，这是因为使用不同的标样，只是引起时相曲线图上曲线坐标截距的变化，并不改变曲线的形状。但在测量过程中需始终使用同一标样，以便就不同试样的 δ 值互相进行比较。

4. 服用标记药物后 δ 值的比较

正常人、病患者服用标记药物后，其 δ 值的变化是有很大的差异的。我们把这二种情况和正常人不服药物在相同时间内所得的数据作时相曲线示于图3。三者相互之间 δ 峰值差别在时相曲线上是明显可辨的。实际上由时相曲线图上可求出¹³C₂O₂呼气试验用于研究代谢机理和诊断疾病的有用、可靠的各种参量，实现医疗门诊信息化。

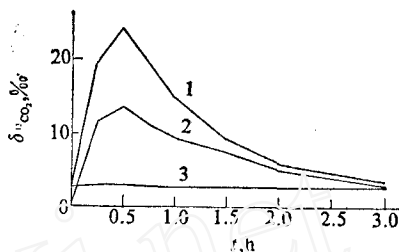


图3 不同情况下的时相曲线比较

- 1——正常人服用标记药物后曲线；
2——病患者服用标记药物后曲线；
3——正常人未服标记药物的曲线。

5. 采样时应注意的问题

医院里通常采用酒精来消毒。用液氮冷却时，乙醇和CO₂一起气化进入质谱离子源。由于乙醇产生质量数为44和45二个碎片离子峰，对CO₂同位素质谱峰测量结果有很大的影响，所以在采样时必须特别注意。

实践证明，我们所建立的人体呼气试验的制样方法和测量方法，是一种灵敏、简便、准确、可靠、安全、无损伤、无交叉感染的新型的临床检验方法。它的建立和推广应用必将促进新技术在临床医学中的应用，推动稳定核素应用技术的发展。

实验中样品的采集和测量得到刘纯和文启彬同志的帮助，在此表示衷心感谢。

参 考 文 献

- [1] Scholler, D.A. et al., *J. Lab. Clin.*, 90, 412 (1977).
[2] 蒋焕文, 孙 续, 电子测量, 北京, 计量出版社, 1983年, 第7-1070页。
[3] 夏宗勤等, 核技术, 3, 1 (1985).
[4] Klein, P.D. and Klein, E.R., *Spectra*, 8 (4), 9 (1981).

DETERMINATION OF ¹³C IN ¹³CO₂ BREATH

SAMPLE BY MASS SPECTROMETER

ZHANG WEICHENG ZENG WENBING

(Institute of Modern Physics, Academia Sinica, Lanzhou)

(下转第126页, Continued on p.126)

STUDY OF KINETICS IN LABELLING THE ADRENAL IMAGING AGENT NCL-6-I BY THE CROWN ETHER METHOD

CHEN SHIPING

(Department of Nuclear Science, Fudan University, Shanghai)

LIU BOLI

(Department of Chemistry, Beijing Normal University)

ABSTRACT

Radioiodination of NCL-6-I is achieved by means of the crown ether method. Kinetics in the 18-C-6 crown ether medium is investigated. The results indicate that the isotopic exchange reaction between NCL-6-I and Na^{125}I is a second order reaction. The rate constant of reaction is determined by a straight line between $-\ln(1-F)$ and t . Our results show that the crown ether labelling method is characterized by high yield, rapidity and convenience.

Key words NCL-6-I, Radiohalogenation, Kinetics, Crown ether method.

(上接第95页, Continued from p.95)

IO_3^- on various investigated rock samples. The results of batch technique agree with those of column migration experiment within the error limits.

Key words Radioactive iodine, Geological material, Column migration, Sorption ratio.

(上接第122页, Continued from p.122)

ABSTRACT

In this paper, sample collection and handling and isotopic ratio measurement have been reported. The cylinder CO_2 is used as the standard gas in the experiment. A vacuum system for preparing the breath test sample is designed. The precision and several relevant factors for MS analysis are discussed.

Key words Breath test, Determination, ^{13}C , Mass-spectrometric analysis.