

应用质子激发 X 射线分析 L615 白血病小鼠的血、肝和脾中的 某些微量元素

汪芳林 馬鑫培

(中国科学院原子能研究所)

刘承斌 赵啓仁 叶章程

(中国医学科学院放射医学研究所)

建立了应用质子激发 X 射线分析生物组织中微量元素的方法。用这种方法分析了正常纯系 615 小鼠和 L615 白血病小鼠的血、肝和脾中的 Fe、Cu 和 Zn 等元素的浓度。对实验结果进行了初步讨论。

引 言

质子激发 X 射线分析技术是 1970 年由 T. B. Johansson 等人^[1]首先提出的。它的基本原理是：用一定能量的质子轰击样品，打出原子的内层电子，外层电子填补这种空穴时，便发射特征 X 射线，通过测定特征 X 射线的能量和强度，对元素进行定性和定量分析。它的主要优点是：可同时进行多元素分析，灵敏度高和易于自动化。近年来，这种技术在医学生物学、环境科学、固体物理、法医学和考古学等领域已有不少应用^[2]。由于微量元素与人体健康和不少疾病的病因学有着密切的关系，更为人们所重视^[3,4]。为此，不少作者已应用这种新技术测定了生物样品中的微量元素^[5-10]。

本研究的目的是建立生物样品中微量元素的质子激发 X 射线分析方法，观察我国自己建立的并已进行了较系统研究的 L615 白血病^[11]小鼠的血液及某些组织中元素浓度的变化。

实 验 装 置

图 1 为实验装置示意图。由 2.5 兆电子伏连续可调能量的静电加速器提供质子束，经 1.3 微米厚的镍箔散焦，再经两级直径为 10 毫米的碳准直器准直后，入射到靶上，靶的法线与质子束成 45° 角。束斑直径约 10 毫米。靶室由有机玻璃制成，靶架上有 6 个靶位。为了吸收掉样品中低原子序数元素的 X 射线及部分二次电子韧致辐射本底，在靶和探测器间设置 1 毫米厚的聚苯乙烯吸收体。X 射线用直径 8 毫米、厚 3 毫米的 Si(Li) 探测器探测。探测器与质子束在一个水平面内，且与质子束成 90° 角。信号经前置放大器和 JBF-3

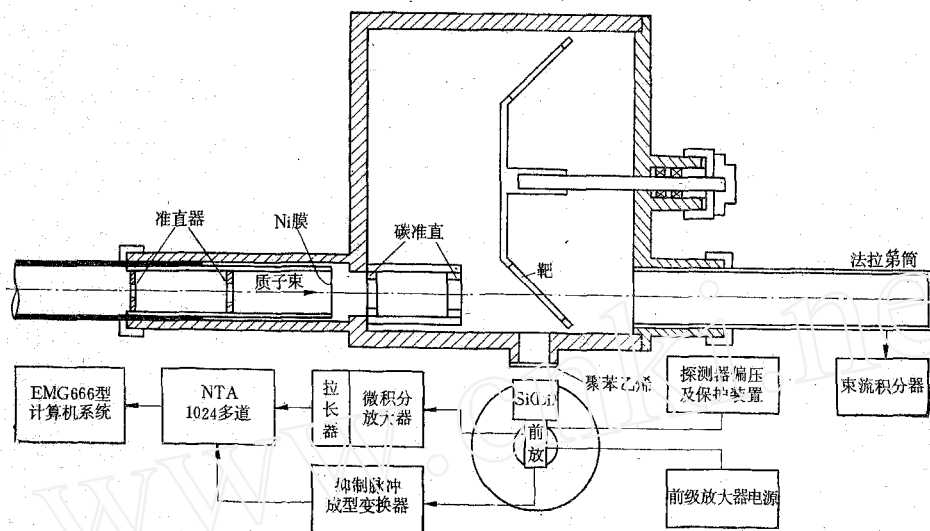


图 1 靶室装置及电子学数据处理系统

型主放大器放大后,由 NTA 1024 道脉冲幅度分析器分析。Si(Li) X 射线谱仪对锰的 5.898 千电子伏的 K_x 射线分辨率为 210 电子伏。数据由打印机打印输出或由 EMG 666 型计算机处理。质子电荷由法拉第筒收集,由束流积分仪记录。靶室真空度约为 10^{-5} — 10^{-6} 毫米汞柱。分析一个样品约需 10—15 分钟。

材 料 和 方 法

实验中所用试剂均为光谱纯。水为无离子水。钇(Y_2O_3 上海试剂厂, 光谱纯)的水溶液,浓度为 0.1085 微克钇/毫克。人血清清蛋白(长春生物制品研究所)水溶液,浓度为 20 毫克/毫升。分离献血员混合血得到正常人血清。

取体重 16—18 克雌性 615 纯种小鼠随机分为两组。实验组(9 只)于腋下接种患 L615 白血病小鼠的脾脏匀浆液,引发 L615 白血病。对照组(10 只)注射同量生理盐水。两组动物同笼饲养,任意取食。接种 6 天后,用摘除眼球法采血,并分离血清;手术取出肝脏和脾脏。

样品的灰化 取全血或血清 0.2 毫升,置 10×50 毫米的小石英管中,于灰化炉中干燥 2 小时, $200^\circ C$ 进行碳化。然后升温至 $450^\circ C$ 分别灰化 12 和 10 小时。

取血清 0.2 毫升,置于 2 毫升硬质玻璃杯中。在 LTA-4 SN 型氧气等离子低温灰化器灰化 8 小时。

铺靶样 实验中所用衬底为 VYNS 薄膜,厚约 15 微克/厘米²。框架铝环外径 32 毫米,内径 26 毫米,厚 1 毫米。

全血灰中加入 50 微升混合酸($10 N HNO_3$ 和 $3 N HCl$, $V/V=3:1$),水浴上加热溶解,蒸发干燥。加入钇溶液 0.16 毫升和血清清蛋白液 30 微升,溶解并混匀。取 35 微升在膜上铺样。

肝、脾灰化后,加入 0.4 毫升 $0.1 N HCl$, 溶解并干燥。再加入 1.2 毫升钇溶液及 0.24 毫升血清清蛋白溶液,溶解混匀。取 35 微升铺样。

于血清灰中加入 52 微升 0.1N HCl, 溶解并干燥。再加入 0.2 毫升钇溶液及 35 微升血清清蛋白溶液, 溶解混匀。取 50 微升铺样。

在相同条件下, 制备空白靶样。

全部样品直径约 10 毫米, 在防尘条件下自然风干。样品厚度小于 1 毫克/厘米²。

定量分析 全部实验都用薄靶。使用单一内标准进行元素定量计算。内标准是钇。样品中元素浓度 C_i 的计算公式如下

$$C_i = \frac{S_i}{S_y} \cdot \frac{M_y}{M_s} \cdot \eta_i \quad (1)$$

式中, S_i 和 S_y 分别为元素 i 和钇的扣除本底后的 k 峰总计数; M_y 和 M_s 分别为待铺溶液中钇的总量和所含新鲜组织总量; η_i 是钇相对于元素 i 的相对灵敏度, 它的定义是: 单位质量钇的 k X 射线计数与单位质量元素 i 的 k X 射线的比值, 可由下式给出

$$\eta_i = \frac{S_y}{S_i} \cdot \frac{m_i}{m_y} \quad (2)$$

式中, m_i 和 m_y 分别为靶上元素 i 和钇的已知量。

结果和讨论

其它实验条件固定时, 在一定质子能量范围内, 不同的质子能量对应一部分元素的灵敏度最好。实验测定了质子能量分别为 1.5、2.0 和 2.4 兆电子伏条件下的元素相对灵敏度曲线。图 2 实验曲线表明, 质子能量为 2 兆电子伏时, 对分析 Cu、Zn 等元素是有利的。所以, 实验中所用质子能量均为 2 兆电子伏。

实验表明, 在小石英管中进行血及其它组织样品灰化(450℃)12 小时可近恒重。与在石英坩埚中的灰化结果基本相同(表 1)。此法有利于小量样品分析, 但注意应在样品烘干及碳化后方可升温, 以免样品逸出。

低温灰化有防止某些元素在高温情况下丢失的优点; 但灰化全血及块状组织要用 48—72 小时的时间。表 2 列出实验测定的低温灰化入血清中的元素浓度及文献[6]的数据, 结果相近。

把一个样品制成 4 个靶样, 同时测量 3 个靶样(即表 3 和 4 中的 1—3 号)。另一个靶样在 24 小时后测量(即表 3 和 4 中的 4 号), 以观察平行样品同时测量的重复性及平行样品在不同时间测量的重复性。从表 3 和表 4 中看出, 在本实验条件下, Fe、Cu 和 Zn 的重复性较好。1—4 号靶样的相对标准偏差在 2%—8% 之间, 靶样 4 的测定值与靶样 1—4 的平均值比较, 相对偏差在 1—10% 之间。实验的精密性与这种方法目前公认的精密性 $\pm 10\%$ [2] 相近。

衬底是本底的重要来源之一, 它的物理化学性质对靶的质量影响很大。实验比较了

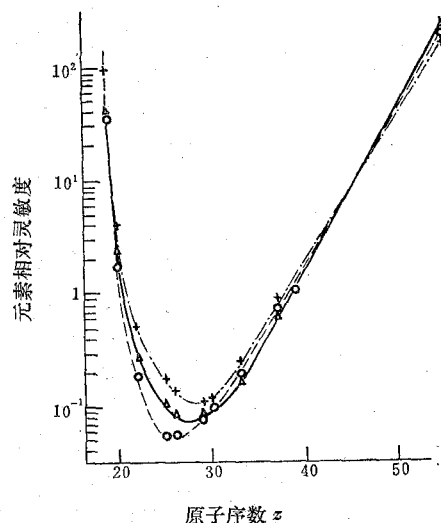


图 2 元素相对灵敏度曲线
○—质子能量 1.5 MeV; △—质子能量 2.0 MeV; +—质子能量 2.4 MeV。

表 1 用小石英管与石英坩埚灰化结果比较

灰化容器	不同灰化时间的残渣	
	8小时	11小时
坩埚	0.7%	0.7%
小石英管	0.83±0.06%	0.80±0.05%

表 2 低温灰化人血清中元素浓度 (ppm 湿重)

样品	Fe	Cu	Zn
样 1	1.76	1.37	1.37
样 2	1.90	1.24	1.21
平均	1.83	1.31	1.29
文献[6]平均值	2.06	0.71	1.28

表 3 小鼠脾脏元素浓度(ppm 湿重)测定的重复性

靶样号	Fe	Cu	Zn
1	144.2	0.9	28.4
2	145.9	1.1	30.0
3	141.2	1.0	30.0
4	146.1	0.9	29.1
平均±SD	144.3±1.1	1.0±0.1	29.3±0.1

表 4 小鼠肝脏元素浓度(ppm 湿重)测定的重复性

靶样号	Fe	Cu	Zn
1	93.3	14.6	43.3
2	72.0	12.2	37.3
3	83.0	13.9	43.2
4	75.1	13.6	38.8
平均±SD	80.8±4.7	13.6±0.5	40.6±1.5

VYNS膜、聚丙烯膜和涤纶膜。发现它们都含有少量K、Ca、Fe和Zn，均有较好的耐化学腐蚀性能。VYNS膜机械强度稍差，但亲水性能较好。

生物样品灰的直接铺样，干燥后均有明显结晶出现，使得靶样严重不均匀。我们在制靶样时，用钇溶液溶解后，加入约0.3%原样品重量的人血清清蛋白，较好地避免了无机盐的析出，使靶样的均匀性得到明显改进，从而提高了测量的精密度。此外，还使样品在聚丙烯或涤纶膜上的附着力加强。

L615白血病组和对照组的小鼠的血、肝和脾的混合样品的分析结果列于表5。图3、图4及图5、图6分别给出了小鼠的肝和脾的对照组和实验组的质子激发X射线能谱。能谱中清楚地观察到了K、Ca、Ti、Fe、Cu、Zn和Rb等元素的峰。为了比较目的，表中只列出了Fe、Cu和Zn的值。

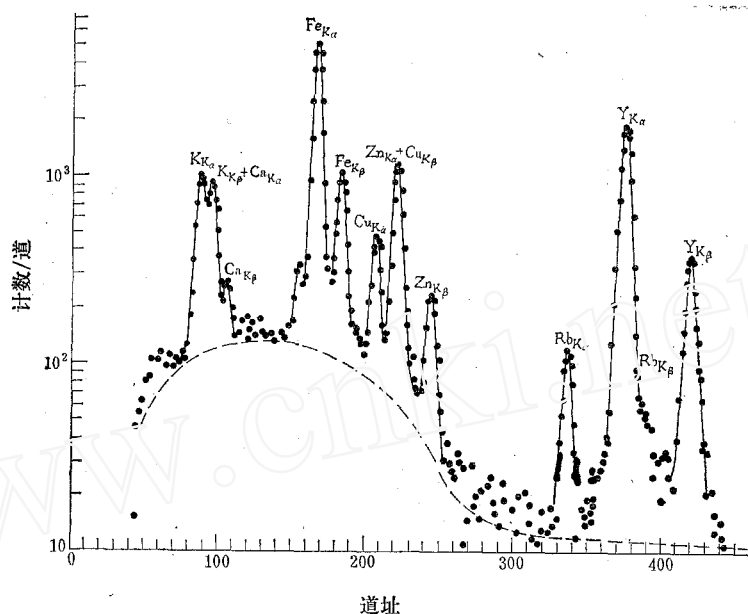


图 3 对照组小鼠肝脏质子激发 X 射线谱
 $E_0=2\text{ MeV}$; 吸收片, 1 mm 聚苯乙烯。

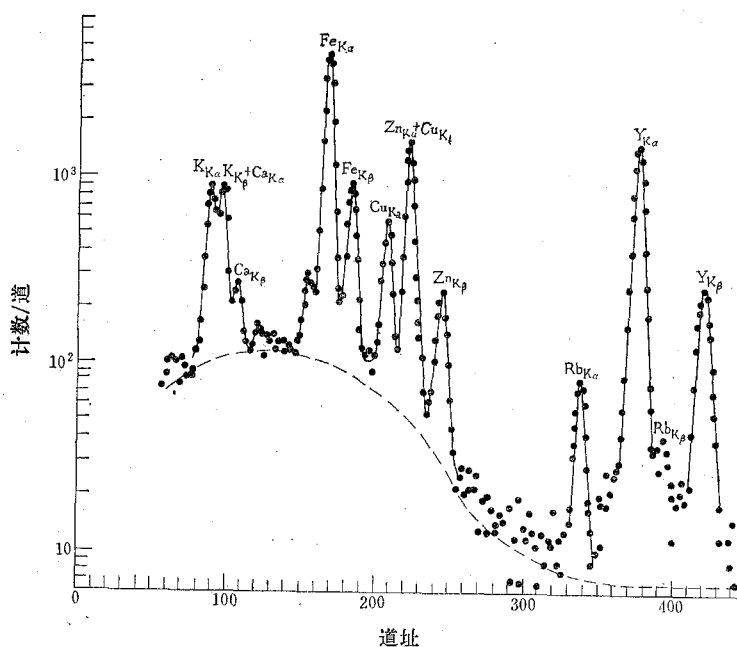


图 4 实验组小鼠肝脏质子激发 X 射线谱
 $E_0=2\text{ MeV}$; 吸收片, 1 mm 聚苯乙烯。

初步实验表明, 实验组的血清及肝中的 Cu 和 Zn 浓度明显高于对照组的。特别引起兴趣的是实验组小鼠脾脏中的 Cu 浓度明显低于对照组的, 考虑到实验组小鼠脾脏重量约为对照组的 5 倍, 若从整个脾脏铜含量看, 则实验组的只是略低于对照组的。所以实验组小鼠单位重量脾组织中的铜含量的降低与脾脏肿大的因果关系值得进一步探讨。

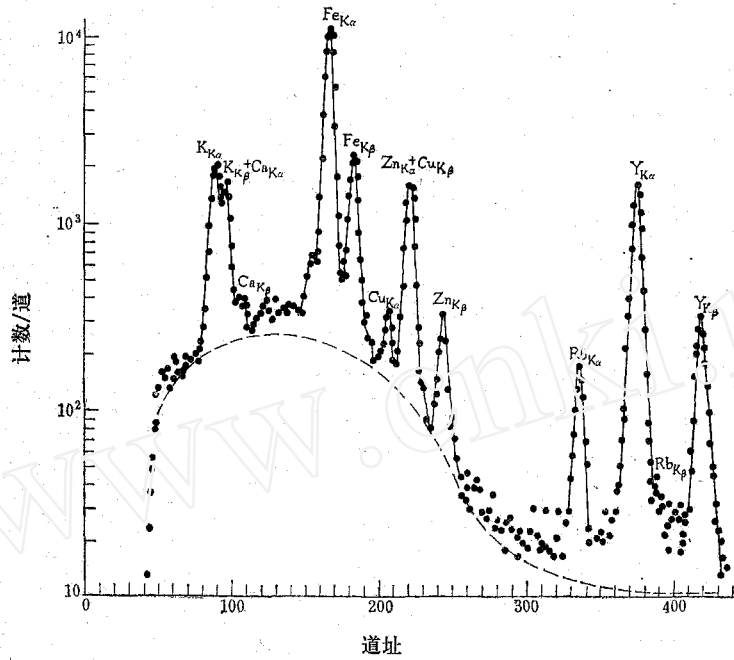


图 5 对照组小鼠脾脏质子激发 X 射线谱
 $E_p=2\text{ MeV}$; 吸收片, 1 mm 聚苯乙烯。

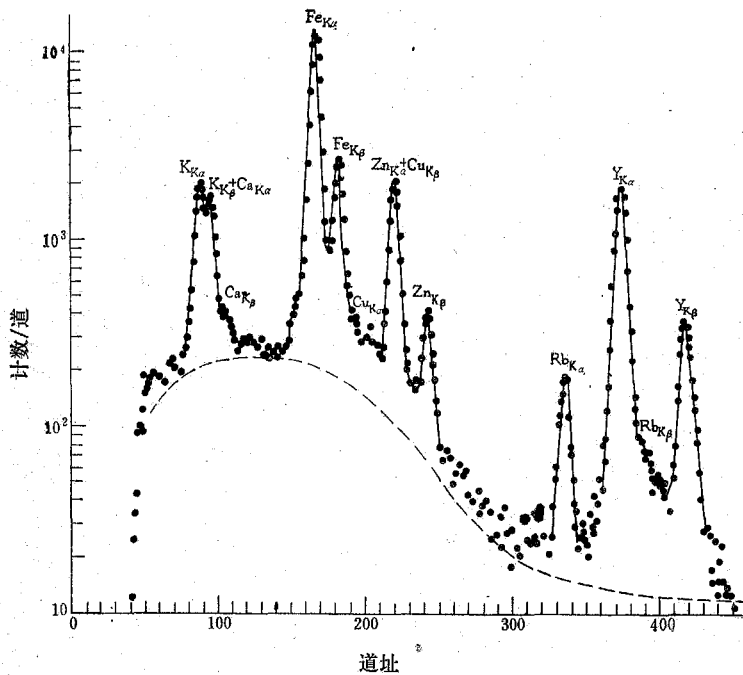


图 6 实验组小鼠脾脏质子激发 X 射线谱
 $E_p=2\text{ MeV}$; 吸收片, 1 mm 聚苯乙烯。

表 5 实验组和对照组小鼠全血、血清、肝和脾中元素浓度(ppm湿重)的比较

元 素	组 别	全 血		血 清		肝		脾	
		实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组	实验组	对照组
Fe		374.2	577.8	8.9	7.0	80.0	82.0	143.0	133.0
Cu		1.7	1.2	1.9	1.0	9.8	5.5	0.2	1.6
Zn		4.2	5.4	2.6	1.4	26.1	17.6	20.0	16.4

本工作承林汉、徐永昌二同志指导，原子能研究所活化分析小组其它同志参加了讨论和测量，谨此致谢。

参 考 文 献

[1] T. B. Johansson, et al., *Nucl. Instrum. Methods*, **84**, 141(1970).
 [2] S. A. E. Johansson, *Nucl. Instrum. Methods*, **142**, (1977).
 [3] M. K. Schwartz, *Cancer Research*, **35**, 3481 (1975).
 [4] J. G. Reinhold, *Clinical Chemistry*, **21**, 476 (1975).
 [5] V. Valkovic et al., *Nucl. Instrum. Methods*, **114**, 573 (1974).
 [6] R. D. Vis et al., *Nucl. Instrum. Methods*, **142**, 159 (1977).
 [7] N. A. Dyson et al., *J. Radioanal. Chem.*, **46**, 309 (1978).
 [8] R. C. Bearse et al., *Anal. Chem.*, **46**, 499 (1974).
 [9] T. B. Johansson, et al., *J. Radioanal. Chem.*, **32**, 207 (1976).
 [10] I. Hasselman et al., *Nucl. Instrum. Methods*, **142**, 163 (1977).
 [11] 中国医学科学院六室实验白血病小组, *遗传学报*, **2**, 37 (1975).

(上接第 161 页)

参 考 文 献

[1] W. Kluger et al., *KFK-1037*, 1969.
 [2] 徐远超等, *核化学与放射化学*, **2**, 28 (1980).
 [3] R. A. Hively et al., *J. Gas Chromato.*, **6**, 203(1968).
 [4] J. A. Rijks et al., *Chomatographia*, **7**, (3), 99, (1974).
 [5] D. A. Tourres, *J. Chromatogr.*, **30**, 357 (1967).
 [6] J. A. Gramers et al., *J. Chromatogr.*, **51**, 13(1970).
 [7] 余仲健等, 科学院第三次色谱会议会议资料, 1979.
 [8] E. Kovats, *Helv. Chim. Acta.*, **41**, 1915(1958).
 [9] *Ibid.*, **42**, 2709(1959).
 [10] L. S. Ettre et al., *J. Chromatogr.*, **30** 1(1967).
 [11] M. L. Peterson et al., *J. Lipid Res.*, **1**, 132(1959).
 [12] 徐斌, *分析仪器*, **2**, 56(1978).
 [13] 王俊德, *分析化学*, **2**(4), 310(1974).
 [14] N. G. Mataggart et al., *J. Inst. Petrol.*, **54**, 265(1968).
 [15] W. A. Dietz *J. Gas Chromatogr.*, **5**, 68(1967).
 [16] R. Kaiser, *Chromatographie in der gasphase*, Leipzig, vol. 1, 1964.
 [17] 许蓉珠等, 低沸点烟类的毛细管色谱分析, (内部资料) 1979.
 [18] 徐远超等, *核化学与放射化学*, **2**, 168(1980).