

文章编号:0253-9950(2009)01-0042-04

用 ^{22}Na 初探植物示踪的液体闪烁计数法

许君政¹, 李 湛¹, 王春梅², 吴王锁^{1,*}

1. 兰州大学核科学与技术学院, 兰州 730000; 2. 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 兰州 730000

摘要:用 ^{22}Na 研究植物示踪的液体计数法, 建立了一个在植物同位素示踪法中有效测量放射性同位素的方法。研究了不同的样品制备、闪烁液用量、植物含水量、化学淬灭等因素对测量的影响, 同时在测量时引入离心小管, 降低实验成本, 使实验简单可靠。

关键词:植物示踪; ^{22}Na ; 离心管; 闪烁计数

中图分类号:TL812 **文献标志码:**A

Preliminary Study on Measurement of ^{22}Na Tracer With Liquid Scintillation Counting in Botanical Research

XU Jun-zheng¹, LI Zhan¹, WANG Chun-mei², WU Wang-suo^{1,*}

1. School of Nuclear Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China;

2. Lanzhou Institute of Animal Husbandry and Veterinary Pharmaceutics, Chinese Academy of
Agricultural Sciences, Lanzhou 730000, China

Abstract: A new experimental means which measured radioactive count on ^{22}Na plant tracing was found. Some factors influencing on count which included different sample disposals, water content of plant, dosage of twinkle liquid, and chemistry quenching were studied. And small centrifugal tubes were used in experiment. The tube can reduce the cost, and make the experiment simple and reliable.

Key words: plant isotope tracing; ^{22}Na ; centrifugal tube; liquid scintillation count

在植物抗盐机理^[1]和成分复杂的中药材治病机理的研究^[2]中, 示踪技术是一种重要而有效的方法, 因此探索一种简便可靠的植物示踪测量方法将有重要意义。抗盐机理的研究中液体闪烁计数法测量的文献较多, 但没有详细方法学的探讨^[3-4]。生物示踪的液闪计数法中植物样品的制备方法直接影响计数的高低, 植物组织的样品制备有直接法、硝酸硝化法、灰化制备法等^[5]。直接

法测量计数的不足是溶液不均匀, 有一定的光子淬灭^[6]。硝酸硝化法给溶液增加了颜色, 产生严重的颜色淬灭。灰化溶解法制备的样品均匀透亮, 虽然减少了光子淬灭与颜色淬灭, 然而灰化溶解所用的无机溶剂增加了水对光子的淬灭作用^[7], 且实验操作复杂难以准确控制, 所以有必要找一种可靠简洁的测量方法。

本工作尝试在计数测量时加入塑料离心管,

收稿日期:2007-10-11; 修订日期:2008-06-11

基金项目:国家自然科学基金人才培养基金资助项目(J0630962)

作者简介:许君政(1954—), 男, 陕西西安人, 工程师, 放射化学专业

* 通讯联系人: wuws@lz.edu.cn

以增加对普通测量管使用的次数,减少闪烁液的用量,有效降低成本,同时方便操作。并拟使用溶有示踪剂的盐溶液处理小麦,通过不同小麦样品的制备来探索一个简便有效的直接液体闪烁计数测量方法。

1 实验部分

1.1 实验材料和仪器

闪烁液:取 5 g 2, 5-二苯基噁唑(PPO), 0.3 g 1, 4-双-[5-苯基噁唑基-2]苯(POPOP)溶解到适量甲苯中,并稀释到 1 L,微热,充分摇匀备用^[5]; ²²Na-NaCl, 中国同位素公司;其他试剂均为分析纯。小麦(陇春 23);小麦种子由兰州大学草地农业技术学院提供,将发芽 5 d 的小麦幼苗放入不同浓度梯度的营养液中分别培养 50 mmol/L(1 d)→100 mmol/L(1 d)→150 mmol/L(1 d)→200 mmol/L(4 d)^[8]。

LS6500 低本底液闪仪,美国 Beckman 公司。

1.2 引入离心管的可行性试验

取 6 支离心管各放入测量瓶中,然后再取 6 支测量瓶,向离心管和测量瓶中分别加入等体积的同位素,进行 2 种不同测量计数率方法之间的差异显著性实验。再取 12 支离心管加入等体积的同位素,将离心管放入测量瓶中进行离心管对计数率线性影响实验。

1.3 不同样品制备方法对计数率的影响

取已处理的麦苗 24 枝,均分为 4 组,分别进行直接法、硝化法、灰化法、不加闪烁液法测量计数率,选择较好的样品制备方法。再进行植物含水量、闪烁液用量和化学发光与计数率关系的实验。

2 结果和讨论

2.1 塑料离心管测量的可行性试验

2.1.1 引入离心管和未引入离心管测量计数率的比较 取 6 只离心管各加入 0.01 mL ²²Na 同位素溶液(3.95×10^8 Bq/L),分别加入 2 mL 闪烁液,各放入测量瓶,暗置 8~16 h,测量计数率。再取 6 只测量瓶,重复以上步骤,测量计数率。引入离心管和未引入离心管计数率差异比较列入表 1。由表 1 可知,引入离心管后的计数率平均值($3\ 523/\text{min}^{-1}$)小于未引入的值($3\ 585/\text{min}^{-1}$),但是差异不显著($P > 0.05$)。

表 1 引入离心管与未引入离心管测量计数率之间的比较

Table 1 Difference between with and without centrifugal tube

No.	计数率(Count rate)/ min^{-1}	
	引入离心管 (With centrifugal tube)	未引入离心管 (Without centrifugal tube)
1	3 365	3 543
2	3 360	3 606
3	3 560	3 666
4	3 670	3 563
5	3 667	3 589
6	3 515	3 542
	(3 523±138)	(3 585±47)

注(Note): 括号内数值为平均值(Data in parentheses are average values)

2.1.2 离心管对计数率线性的影响 取 11 个测量瓶各放入 5 mL 的离心管 1 个,依次向离心管中加入 0.0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0 mL 的²²Na 同位素溶液(1.85×10^9 Bq/L)。然后分别加入 2 mL 的闪烁液,暗置 8~16 h,测量计数率,结果示于图 1。由图 1 可知,引入离心管以后,计数率和同位素用量之间依然满足正比关系, $y = 936.52x + 110.56$, $r^2 = 0.9909$,所以离心管的引入对测量没有影响。并且加入离心管能有效减少闪烁液的体积,增加普通测量管的使用次数,简便实验操作,便于放射性试验废物的处理,降低了成本。

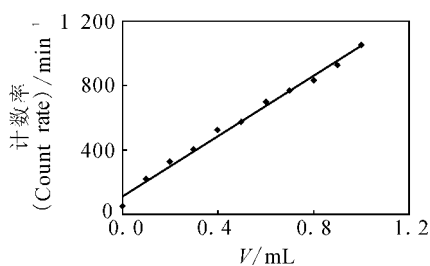


图 1 离心管对计数率的影响

Fig. 1 Influence of centrifugal tube to count rate

2.2 不同植物制备方法对计数率的影响

2.2.1 直接测量 将 6 棵麦苗用含有放射性同位素($2.01 \times 10^6/(\text{min} \cdot \text{L})$)的 200 mmol/L 盐溶液处理 24 h,取出,用冰 CaCl_2 润洗 2 min^[3],取出用吸水纸吸干表面水分,立刻称量鲜重,80 °C 烘干 4 h,再将样品放入 5 mL 离心管,加入 2 mL 闪烁液,调节使液体淹没麦苗,暗置 8~16 h 测量计数率。

2.2.2 硝化测量 将 6 棵按 2.2.1 节方法处理的麦苗称完鲜重后,立刻于 80 °C 干燥 4 h, 研碎。放入 5 mL 离心管中,加入 1 mL 68% 盐酸水浴硝化至完全溶解。冷却后加入 0.5 mL 双氧水去色。加入 2 mL 闪烁液后再加入 1.5 mL 热辛基酚聚氧乙烯(10)醚(OP-10 60~80 °C)乳化^[5, 9], 振荡均匀,放入测量瓶暗置 8~16 h, 测量计数率。

2.2.3 灰化测量 将 6 棵按 2.2.1 节方法处理的麦苗称重后,放入坩埚用电炉焚烧至不冒烟,然后放入 500 °C 马弗炉灰化 4 h^[5]。向坩埚中加入 2 mL 10% 稀盐酸微热溶解,然后取出 1 mL 加入离心管中,加入 2 mL 闪烁液,再加入 2 mL 热 OP-10 乳化,振荡均匀,放入测量瓶,暗置 8~16 h, 测量计数率。

2.2.4 不加闪烁液直接测量 将 6 棵按 2.2.1 节方法处理的麦苗称量鲜重,装入离心管放入测量瓶,暗置 8~16 h, 测量计数率。

2.2.5 推荐植物样品制备方法 经不同方法制备的植物样品计数率测量结果列入表 2。由表 2 可知,硝化测量计数率最高,其次是直接测量,未加闪烁液直接测量和直接灰化测量计数率较低。直接测量和硝化测量之间差异不显著 ($P > 0.05$),但硝化测量的标准偏差大于直接测量;虽然硝化测量的样品制备均匀,但是硝化溶解后所引入的水样和溶液产生的黄色引起了严重的光子淬灭^[5],使计数率变动较大。灰化测量操作比较困难,在转移液体时加入的无机溶液使无机相和有机相分层,因而必须加入乳化剂,在两相溶合时产生大量的气泡,产生气体发光,增加虚假计

数率^[10],同时无机相引入增加了水对光子的淬灭,使实验误差加大^[11]。以上分析表明,直接测量操作简单,费时少,计数效率较高,是一种较好的测量方法,因此推荐在植物的²²Na 示踪实验测量计数率时采用直接测量法。

2.3 植物样品的含水量对计数率的影响

由于植物样品采用水培法,所以植物外体组织中含有大量的水分^[12],水分能引起光子的淬灭,将 27 棵按 2.2.1 节方法处理的麦苗称完鲜重,以 3 棵为 1 组,分别立刻放在通风处风干 0, 5, 10, 30, 40, 50, 60, 90, 120 min^[9],然后放进离心管中加入 2 mL 闪烁液,暗置 8~16 h, 测量计数率。植物含水量与计数率的关系示于图 2(a)。由图 2(a)可知,干燥时间小于 50 min 时,由于含水量较大,不同植物个体对水分吸收量的差异导致计数率较低且数据有些上下摆动。大于 50 min 后计数率开始增大,虽然个体差异使数据有所晃动,但总体数据较高。所以在直接测量时,将麦苗从清洗液中取出要用吸水纸吸干植物表面水分,风干 50 min 后,即可装入离心管,加入闪烁液,暗置 8~16 h 再进行测量。

2.4 闪烁液用量对计数率的影响

将 48 棵同样处理的麦苗称量鲜重,6 棵为 1 组,分别加入 0.0, 0.5, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0 mL 闪烁液装入离心管,然后放入测量管,暗置 8~16 h 测量计数率^[9]。闪烁液用量与计数率的关系示于图 2(b)。由图 2(b)可知,在闪烁液体积小于 1.5 mL 时,计数率随着闪烁液体积的增加而增加;当闪烁液体积大于 1.5 mL 后,计数率变化平稳;当闪烁液体积为 1.5 mL 时,刚

表 2 不同样品制备方法测量计数率之间的比较

Table 2 Difference of four kinds of means of sample preparation

No.	计数率(Count rate)/ min ⁻¹			
	硝化法 (Nitration method)	未加闪烁液直接测量 (Direct measurement method without scintillation liquid)	灰化法 (Ashing method)	直接法 (Direct measurement method)
1	10 883	1 172	6 424	11 706
2	14 088	1 281	7 560	11 401
3	13 703	1 446	8 507	12 405
4	10 438	898	6 948	11 992
5	14 733	1 227	8 614	11 364
6	14 087	1 213	7 164	10 774
	(12 989 ± 1 839 ^a)	(1 206 ± 179 ^c)	(7 536 ± 875 ^b)	(11 607 ± 565 ^a)

注(Note): 1) 右上角字母不同表示 2 种方法有显著性差异, $P < 0.05$ (The different letters upper right indicate that there are significant difference of two methods, $P < 0.05$);

2) 括号内数值为平均值 (Data in parentheses are average values)

好淹没植株,这样即可有效测量计数率。

2.5 化学发光

化学发光主要是由于样品中的化学反应所引起的发光虚假计数率,实验中可通过延长暗置时间使反应完成,以便有效地减少化学发光。将 10 只小麦在含有放射性同位素的盐溶液中处理 24 h,称量鲜重,分别放入 5 mL 的离心管中,各加入

2 mL 闪烁液,然后将样品暗置 0, 10, 20, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300 min^[9] 测量计数率,结果示于图 2(c)。由图 2(c)可知,暗置时间小于 30 min 的计数率变动较大,大于 30 min 的计数率数据比较平稳,所以推荐在直接法测量中暗置 30 min 后即可进行测量。

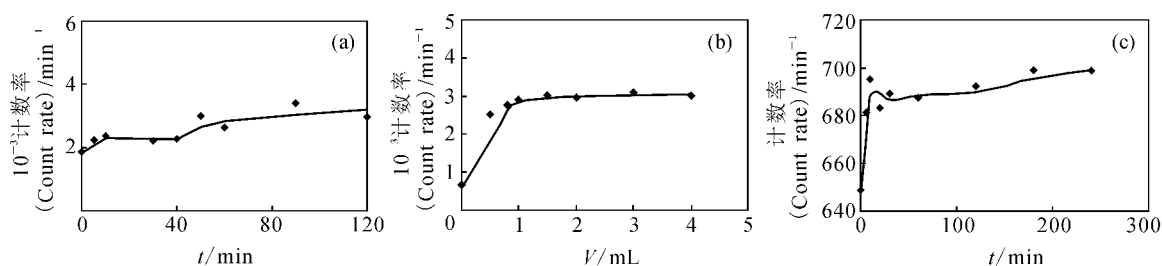


图 2 植物含水量(a)、闪烁液用量(b)、化学发光(c)与计数率的关系

Fig. 2 Relation of water content of plant(a), dosage of twinkle liquid(b), and the chemistry quenching(c) and count rate

3 结 论

(1) 在测量瓶中加入离心管对计数率没有影响,且简化了操作、延长了标准测量瓶的使用寿命,从而有效降低了成本,同时便于放射性实验废物的处理。

(2) 直接法测量计数率只需对生物示踪样品风干 50 min 即可放入离心管中,加入 1.5 mL 闪烁液淹没样品,再将离心管放入测量瓶中暗置 30 min 便可有效测量。该操作简单、可靠,是一种较好的植物同位素示踪液体闪烁计数测量法。

参考文献:

[1] 李 彬,秦 芝,沈正虎,等.多重示踪在植物学研究中的应用[J]. 生命科学,2002, 14(5): 310-313.
 [2] 薛 明.稳定同位素示踪方法在中药透皮吸收制剂研究中的应用[J]. 江苏中医药,2002, 23(6): 42-44.
 [3] Davenport R, James R A, Zakrisson-Plogander A, et al. Control of Sodium Transport in Durum Wheat [J]. Plant Physiol, 2005, 137: 807-818.
 [4] Jacoby B, Hanson J. Controls on $^{22}\text{Na}^+$ Influx in

Corn Roots [J]. Plant Physiol, 1985, 77(4): 930-934.

[5] 孟昭兴,孙兆祥,唐志刚.放射化学与实验方法与技术[M].北京:北京师范大学出版社,1997: 50-56.
 [6] 王载勇.内标源法在液闪测量 ^3H 和 ^{14}C 活度中的应用[J].核电子学与探测技术,2004, 24(6): 672-673.
 [7] 郑勇刚,尹金辉,刘粤霞. Quan tu lua-1220 型低本底液闪仪的性能测定[J].地质地震,2005, 27(4): 624-632.
 [8] 李晓燕,宋占午,董志贤.植物的盐胁迫生理[J].西北师范大学学报(自然科学版),2004, 40(3): 106-111.
 [9] 朱国辉,谢武成.用液体闪烁计数法测定含铀体系中的 ^{99}Tc [J].核化学与放射化学,1996, 18(3): 181-186.
 [10] 姜国华,刘忠敏.液闪法研究 ^{14}C -尿素在小白鼠体内的吸收及分布和排泄[J].现代仪器,2006, (3): 18-20.
 [11] 白秋萍,邢春娥.样品计数过程中出现问题的处置[J].油气田地面工程,2004, 23(5): 62.
 [12] 许翔明,叶和春,李国凤.植物抗盐机理的研究进展[J].应用与环境生物学报,2000, 6(4): 379-387.