

全反射 X 射线荧光分析在生物医学中的应用*

赵利敏¹⁾ 吴应荣 黄宇营 李光城 贾全杰

(中国科学院高能物理研究所 北京 100039)

袁丽珍 陈家佩

(军事医学科学院放射医学研究所 北京 100039)

摘要 介绍了利用北京同步辐射实验室的全反射 X 射线荧光谱仪测量生物细胞样品的可行性。并用此谱仪测量了正常的和受辐照的小白鼠小肠细胞的痕量元素含量,发现 K、Ca、Fe 等元素含量有明显的提高,Cu 元素含量明显降低,Mn 元素含量变化不大,Zn 元素含量基本稳定,并讨论了其在临床医学上的重要价值。

关键词 全反射 X 射线荧光 猪肝标样 BGW08551 小肠细胞 痕量元素

1 引言

自从 1980 年德国 GKSS 研究中心的 J. Knoth 和 H. Schwenke 等人完成了多重全反射装置的机械设计起^[1],全反射 X 射线荧光分析得到了迅速的发展。现在,全反射技术已经十分成熟,它以灵敏度高、制样简便、取样量少、对样品无损坏、定量分析过程较简单等优点,广泛地应用于痕量元素的定量测定,在生物医学、生物化学、法学^[2]、矿物学、海洋学、环境科学、材料科学^[3]等众多领域都是一种强有力的分析测试手段。尤其在生物医学领域有着诱人的前景。国内已有人^[4]做过损伤的和补锌的肝细胞、脑细胞分析,但目前这方面的文献报道比较少。

本工作测定了猪肝标样 BGW08551 在不同浓度和不同激发条件下的检测限,并以此为依据测定了正常的和受辐照的小白鼠的小肠细胞样品,发现 K、Ca、Fe、Cu 等元素含量都有明显的变化,为临床医学提供了一定的指导作用。

2 样品准备

关于能量色散 X 射线荧光分析的样品制备,Barbra 等人^[5]有详细的论述。本实验选取

* 国家自然科学基金资助 1997-01-31 收稿

1) E-mail 地址: ZHAOLM @ BEPC3. IHEP. AC. CN

两组小白鼠,一组经 3Gy 的 ^{60}Co 放射源辐照 3 小时,另一组用来作对照.然后将两组小白鼠分别解剖,刮取小肠内壁细胞,放在 0.9% 的生理盐水中培养一段时间,再离心除去培养液,用 Tris-蔗糖缓冲液洗涤细胞,用微量移液器吸取稀释的细胞悬液 0.5 μl 滴在洁净的硅片上,经红外灯干燥后样斑直径约为 1mm.分析前用光学显微镜选出细胞无重叠的细胞液滴,并计出其细胞个数.

3 实验装置

本实验装置在 12kV 的转靶 X 光机上完成,采用 Mo 靶作激发源,如图 1 所示.

X 射线经过水平和垂直两道狭缝后,光斑大小高为 10mm,宽为 0.5mm.四维样品控制台包括 x 、 y 、 z 和 r 方向,均由计算机控制.真空室用于防止测量中样品的污染.后电离室用于调节全反射位置.显微镜用于校准样斑位置.样品发出的荧光信号由 Si(Li) 探头收集,经谱仪放大器放大后送入多道分析器,再由计算机完成数据的存储及分析.

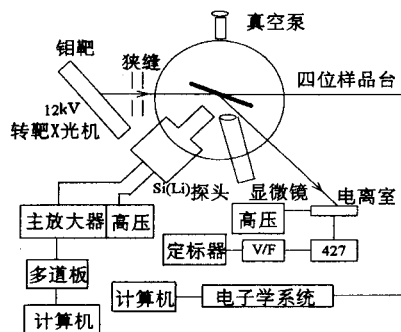


图1 能量色散X射线荧光分析装置图

4 实验结果

最小检测限 (MDL)^[6] 是 X 射线荧光分析可信度的一项重要指标,它决定了实验中最低可以检测到的元素的含量,

$$MDL = 3C^i \frac{\sqrt{N_b}}{(N_t - N_b)}, \quad (1)$$

其中 C^i 是相对元素含量, N_b 为本底计数, N_t 为峰面积计数. 在激发效率完全相同的条件下,样品中各种元素的含量可通过下式求出:

$$\frac{C^i}{N_n^i} = \frac{C^s}{N_n^s}, \quad (2)$$

其中, C^i 、 C^s 分别为待测样品和标样中的元素含量, N_n^i 、 N_n^s 分别为待测样品和标样中的元素的 K_α 线的净峰面积计数.

在 X 光机电压为 35kV、电流为 70mA 的实验条件下,测定了猪肝标样 BGW08551 在不同稀释浓度、不同激发效率下的检测限,如表 1、表 2、图 2、图 3 所示.

表 1 猪肝标样在不同浓度下的 MDL

浓度	绝对 MDL (pg)							相对 MDL ($\mu\text{g/g}$)						
	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn
稀释 500 倍	116.0	18.9	0.15	3.5	16.1	2.6	16.4	116.0	19.0	1.15	3.5	16.0	2.6	16.4
稀释 100 倍	161.0	23.4	<DL	<DL	22.5	19.5	29.9	32	4.7	<DL	<DL	4.5	3.9	6.0

取样量 0.5 μl ; 全反射能量上限 $E_{\text{cut}} = 22.89\text{keV}$; 取谱有效时间 $t_L = 1500\text{s}$.

表 2、图 3 说明,全反射能量上限越高,MDL 越好;表 1、图 2 说明,在其它条件相同时,

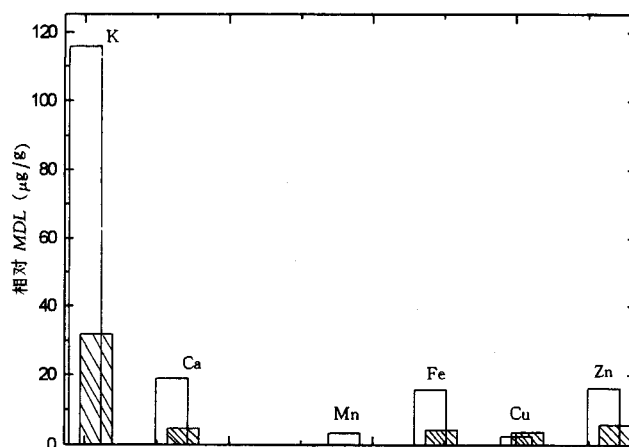


图2 稀释100倍和500倍的猪肝标样BGW08551的相对MDL

□ 稀释500倍; ▨ 稀释100倍.

表 2 稀释 500 倍猪肝标样 BGW08551 在不同激发效率下的 MDL

E_{cut}	绝对MDL(pg)							相对MDL($\mu\text{g/g}$)						
	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn
22.89keV	116.0	18.9	0.15	3.52	16.1	2.6	16.4	115.8	18.9	0.15	3.52	16.1	2.6	16.4
14.76keV	288.3	44.1	0.18	3.64	39.8	6.8	50.0	288.0	44.0	0.20	4.00	40.0	7.0	50.0

取样量 $0.5\mu\text{l}$; 取谱有效时间 $t_s=1500\text{s}$.

MDL与稀释浓度有关. 浓度低, 绝对MDL低, 但是相对MDL高; 浓度高, 绝对MDL高, 但是相对MDL低. K、Ca的MDL很差, 是因为低Z元素荧光产额低, 空气和探头窗的吸收, 以及硅和氩的 K_α 线的影响造成的. 此外, 如在入射初始束流中加上能量切割器, 在

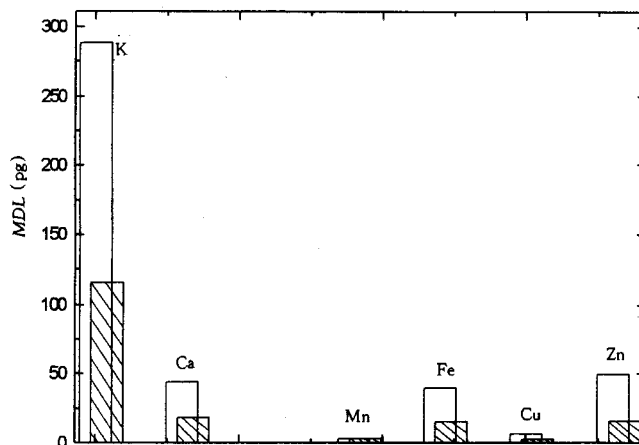


图3 稀释500倍的猪肝标样BGW08551在不同的激发效率下的MDL

□ $E_{cut}=14.76\text{keV}$; ▨ $E_{cut}=22.89\text{keV}$.

端会得到比较理想的检测限.

同时, 为了定量测定在制样和装卸样品当中的实验误差, 用稀释 500 倍的猪肝标样

BGW08551 制了两个样品,其中一个作为外标标样,另一个作为待测样品,将按公式(2)算得的结果与标样证书上给定的结果比较,如表 3、图 4 所示,发现由此造成的误差很小,可以忽略,进一步说明本文的全反射装置是可行的。

表3 制样和装卸样品中实验误差的测定

	元素含量 (ng)						
	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn
测量值	11.28	0.185	2.43×10^{-4}	8.24×10^{-3}	1.06	1.693×10^{-2}	0.178
理论值	11.50	0.197	参考值	8.32×10^{-3}	1.05	1.720×10^{-2}	0.172
偏差	-0.22	-0.012		-8.0×10^{-5}	+0.01	-2.7×10^{-4}	+0.006

取谱有效时间 $t_1=1500s$.

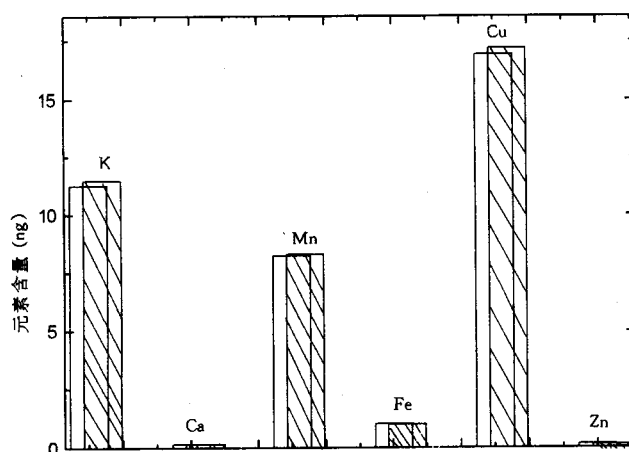


图4 制样和装卸样品中实验误差的测定

□ 实验值; ▨ 理论值.

本图中Mn和Cu元素含量的单位是 pg.

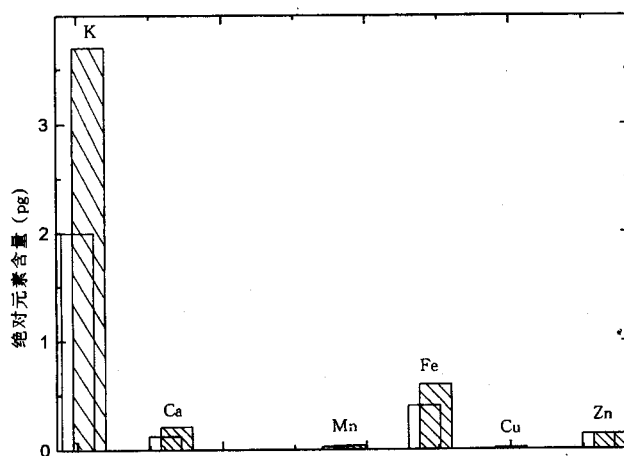


图5 正常的和受辐照的小白鼠的小肠细胞的单细胞元素含量

□ 正常小白鼠; ▨ 受辐射的小白鼠.

Cr元素含量太少,图中未能表示出来.

对于受辐照的和正常的小白鼠,分别测定了其小肠细胞组样品的荧光谱,根据公式(2)算出了其细胞组和每个单细胞的元素含量,结果如表 4、表 5 和图 5 所示.

表4 受辐照和正常的小白鼠小肠细胞的细胞组元素含量 (单位: ng)

	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn
3Gy(2012cells)	7.45	0.44	2.10×10^{-3}	0.080	1.21	4.8×10^{-3}	0.29
正常(2120cells)	4.24	0.28	1.92×10^{-3}	0.059	0.87	4.89×10^{-2}	0.32

2012cells和2120cells分别为受辐照和正常的小白鼠小肠细胞样品中细胞的个数.

表5 受辐照和正常的小白鼠小肠细胞的单细胞元素含量 (单位: pg)

	K	Ca	Cr	Mn	Fe	Cu	Zn
3Gy	3.7	0.22	0.001	0.039	0.60	0.002	0.145
正常	2.0	0.13	0.0009	0.028	0.41	0.020	0.149

5 讨论

能量色散全反射 X 射线荧光分析中,取样量多大为合适,是一个值得商榷的问题. 取样量太小,信噪比差,造成检测限不好;取样量太大,难以保证样品整个样斑被 X 射线辐照.

从表 4、表 5 和图 5 可以看出,小白鼠经辐照后,小肠细胞内 K、Ca、Fe 等元素含量明显提高,Cu 元素含量却明显降低,Zn 元素含量基本稳定. 这对临床医学有很大的指导意义,因为人们可以通过补充微量元素的方法来降低 X 射线辐射对生命机体的损害. 在小白鼠受辐照期间,给其补充微量元素 Cu 和抑制 K、Ca、Fe 元素吸收的物质,应该能够降低辐射对小白鼠的危害. 目前,这方面的工作正在进行中.

参 考 文 献

- [1] Knoth J, Schwenke H F Z. *Analitical Chemistry*, 1980 (7):301—307
- [2] Ninomiya T, Nomural S, Taniguchi K. *Advances in X-ray chemical analysis*, 1994, 26s:9—18
- [3] Bhat C L, Lai M, Patra P K. *X-ray Spectrometry*, 1994, 23:247—250
- [4] Zhang J X, Wu B J, Huang P et al. In: D. Z. Ding. *Proceedings of the 1st Workshop Between the Taiwan Straits on Synchrotron Radiation (in Chinese)*. Beijing: 1993. 307—312
(章净霞等. 见:丁大钊主编. 第一次两岸同步辐射学术研讨会论文集. 北京: 1993. 307—312)
- [5] Barbara Holynska. *X-ray Spectrometry*, 1993, 22:192—198
- [6] Iida A, Gohshi Y. *Trace Element Analysis by X-ray Fluorescence*. In: S. Ebashi, M. Knoch, E. Rubenstein. *Handbook on Synchrotron Radiation*, 4. Elsevier Science Publisher, 1991. 307—348

Application of Total Reflection X-ray Fluorescence Analysis in Biomedical Field

Zhao Limin Wu Yingrong Huang Yuying Li Guangcheng Jia Quanjie

(Institute of High Energy Physics, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039)

Yuan Lizhen Chen Jiapen

(Institute of Radiation Medicine, The Chinese Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100039)

Abstract The feasibility of total reflection X-ray fluorescence spectrometer applied in the biomedical field is discussed. With this spectrometer, the normal and radiated small intestine cells of small white mice were analyzed. The results indicate that the content of trace elements for normal and radiated small white mice was greatly different, which can be used to provide valuable clue for clinic medicine.

Key words total reflection X-ray fluorescence, standard reference of pig liver BGW08551, small intestine cells, trace element