

基于CaF₂靶样的加速器质谱测量生物样品中⁴¹Ca的方法研究*

李世红¹⁾ 姜山 何明 管永精 董克君 武绍勇 袁媛 米升权 刘书田 袁坚

(中国原子能科学研究院核物理研究所 北京 102413)

摘要 为满足⁴¹Ca生物示踪样品测量的需要,在北京HI-13串列加速器质谱(Accelerator Mass Spectrometry, AMS)系统上建立了以CaF₂为靶样的⁴¹Ca AMS分析方法. 生物样品和⁴¹Ca标准样品经过化学分离和纯化,制备成CaF₂作为靶物质. AMS测量⁴¹Ca时,离子源引出CaF₃⁻负离子,膜剥离后的电荷态选择为7⁺态,加速器端电压选定为8.5MV,用充有140mbar P10气体的多阳极电离室探测⁴¹Ca. 结果显示探测器可实现对⁴¹Ca与同量异位素干扰⁴¹K的分辨,粒子谱中⁴¹K的计数率很低,对⁴¹Ca不形成干扰. 对制备的4个标准样品(⁴¹Ca/⁴⁰Ca在 1.785×10^{-8} — 1.750×10^{-10} 范围)的测量结果显示⁴¹Ca/⁴⁰Ca绝对测量值与标称值之间的线性关系良好($r^2 = 0.997$),经⁴¹Ca/⁴⁰Ca为 1.785×10^{-8} 的标准样品归一化后,S2,S4两个标样的测量值与标称值吻合较好,但标样S3的测量值与标称值有较大偏离. 估计生物样品的⁴¹Ca/⁴⁰Ca本底值低于 8.2×10^{-13} .

关键词 ⁴¹Ca 加速器质谱 CaF₂ 生物示踪

1 引言

钙参与、调控众多的生命过程,也是骨健康的关键营养元素. 随着世界上人口老龄化日趋严重,代谢性骨疾病,骨质疏松症以其发病普遍及后果严重而受到广泛关注. 深入理解钙的吸收、体内转运和交换等代谢行为是非常令人感兴趣的,钙同位素示踪技术在这方面能够发挥重要应用. 长寿命的放射性核素⁴¹Ca是近年来随着加速器质谱(AMS)技术发展得以应用的新的生物学示踪剂,适用于长期人体示踪实验^[1, 2],也可用于体外实验^[3],不用担心生物辐射损伤和安全问题. 测量生物示踪样品中痕量的⁴¹Ca需要应用具有排除同量异位素本底和分子离子本底干扰能力的超高灵敏度的AMS分析技术. 目前国际上的AMS实验室测量⁴¹Ca主要采用两种化学形式的靶物质: CaH₂^[4]和CaF₂^[5]. 尽管用CaF₂靶样测量时离子源引出束流强度和粒子传输效率低于CaH₂靶样,但制备CaH₂对实验室条件要求较高,需要具备真空还原和氢化反应装

置,以及样品真空封存技术. 而CaF₂的制备步骤较为简便,可以在普通生化实验室进行,样品也容易保存,更适用于较大数量的生物示踪样品的⁴¹Ca测定. 为满足⁴¹Ca生物示踪研究更多数目样品测量的需要,本工作在北京HI-13串列加速器的AMS系统上已建立的CaH₂靶样法测量⁴¹Ca^[6, 7]的基础上,发展生物样品的CaF₂靶样制备和AMS测量方法.

2 实验部分

2.1 CaF₂靶样制备

2.1.1 试剂和器具

⁴¹CaCO₃标准样品,本实验室内制备^[8],⁴¹Ca/⁴⁰Ca为 1.785×10^{-8} 和 1.750×10^{-10} . CaCO₃, H₂O₂、草酰胺,分析纯; HCl和氨水,优级纯; HNO₃和HF, MOS级. 国产001×8强酸性阳离子交换树脂,

2005-03-04 收稿

*国家自然科学基金(10405036)资助

1) E-mail: lishhchem@sohu.com

100—200目。具塞塑料离心管、瓷坩埚和高硼硅酸玻璃交换柱,使用前用2mol/L HNO₃浸泡至少2d,然后用高纯水冲洗干净,烘干。

2.1.2 配制⁴¹Ca标准溶液

称取一定量⁴¹Ca/⁴⁰Ca为 1.785×10^{-8} , 1.750×10^{-10} 的⁴¹CaCO₃标准样品,分别用适量6mol/L HCl溶解,用去离子水稀释至50mL。同时按一定同位素稀释比,分别准确称取一定量的 1.785×10^{-8} ⁴¹Ca/⁴⁰Ca的⁴¹CaCO₃标准样品和分析纯CaCO₃,在50mL具塞离心管中混合,滴加适量6mol/L HCl溶解,用去离子水稀释至50mL,所得溶液总钙浓度为5mg/mL,备用。

2.1.3 生物样品的消解

取约100mg用玛瑙研钵研碎的大鼠股骨样品,用体积比为4:1的HNO₃和H₂O₂混合溶液加热消解至溶液澄清,蒸近干,用去离子水稀释至15mL。称取300—400mg烘干、研磨后的大鼠粪样,置于瓷坩埚,在马弗炉中500°C灼烧灰化3h,冷却后用体积比为4:1的HNO₃和H₂O₂混合溶液消解,蒸近干,用去离子水稀释至15mL。

用6mol/L HCl溶解CaCO₃,准确配制钙浓度为5g/mL的CaCl₂标准贮备液。准确称取1g大鼠血清样品,加入1mL CaCl₂贮备液,用HNO₃和H₂O₂混合溶液消解至溶液澄清,稀释至15mL备用。

2.1.4 样品中钙的分离和纯化

以上⁴¹Ca标准溶液、生物样品消解液,分别加入等体积饱和草酸胺,必要时滴加氨水维持pH>5,混匀后以4000r/min的转速离心5min,倾去上清液,用2mL 2.5%草酸胺和2mL去离子水分别洗涤沉淀一次。加适量(一般约为2mL)4mol/L HNO₃溶解沉淀,用去离子水稀释至15mL。然后过001×8阳离子交换玻璃柱(内径6cm,树脂层高8cm,事先用10mL 4 mol/L HNO₃, 6mL 0.08 mol/L HNO₃和10mL去离子水平衡),流速控制在1—1.5mL/min。先用15mL 0.8mol/L HNO₃洗脱杂质离子,再用4mol/L HNO₃洗脱Ca²⁺,收集4.5mL流出液于15mL离心管中,加等体积去离子水,再加6mL HF,隔夜放置。4000r/min离心10min,用1mL去离子水洗涤CaF₂沉淀两次,100°C烘烤24h后备用。

2.2 CaF₂靶样的AMS测量

将约4mg CaF₂样品与200目银粉混合(质量比约为1:1),用压靶器压入小孔铝靶锥,然后将靶锥装入可

容纳40个靶锥的靶盘。靶盘在180°C下烘烤数个小时后,装入离子源。

AMS测量时离子源引出CaF₃⁻,碳膜剥离后的电荷态选择7+,采用交替注入⁴⁰CaF₃⁻和⁴¹CaF₃⁻并分别记录流强和粒子谱的方法测量⁴¹Ca/⁴⁰Ca,用AMS法拉第筒测量⁴⁰Ca束流强度,用充有140mbar的P10气体的多阳极电离室探测⁴¹Ca粒子。实验基本步骤如下:

(1) 通光路。在8.5MV端电压条件下,用⁴⁰Ca调束,记录低能端、像点、靶前和AMS法拉第筒处的束流强度,逐级调节相关参数,使传输效率达到最佳。

(2) ⁴⁰Ca模拟传输,即用⁴⁰Ca模拟8.5MV端电压时⁴¹Ca的磁刚度,以确定加速器传输⁴¹Ca时需要的一些参数。改变端电压(8.720MV)、注入磁铁磁场强度和静电偏转板电压,逐级调节相关磁场参数,使⁴⁰Ca传输效率达到最佳。

(3) ⁴¹Ca的测量。重设端电压(8.5MV)、注入磁铁磁场强度以及静电偏转板电压,用气体电离室探测器记录粒子谱,鉴别⁴¹Ca并计数。

(4) ⁴⁰Ca束流强度测量。把端电压、注入磁铁磁场强度和静电偏转板电压等测量参数重新调回⁴⁰Ca的状态,通过AMS法拉第筒测量⁴⁰Ca束流强度。

通过步骤(3)和(4)的多次交替测量就可确定该样品中的⁴¹Ca/⁴⁰Ca。

3 结果和讨论

从图1所显示的标准样品、生物示踪样品和空白样品的二维粒子谱可见主要的干扰核素⁴¹K与⁴¹Ca处于不同的区域,而且计数率很低,⁴¹K/⁴⁰Ca不大于 10^{-12} 数量级。⁴¹K不对示踪样品⁴¹Ca的准确计数形成干扰,这表明探测器对⁴¹Ca有好的分辨,所建立的样品分离和纯化流程也是成功的。

AMS测量超痕量⁴¹Ca时,同量异位素⁴¹K是最主要的干扰核素,离子源引出CaF₃⁻负离子以及靶物质制备中的化学分离和纯化这两种办法的结合能够很好的抑制⁴¹K的计数率。文献[5]中的化学分离和纯化流程采用6mL 0.08mol/L HNO₃洗脱K⁺等干扰离子,由于在此酸度时强酸性阳离子交换树脂对K⁺有较强的吸附能力,预期洗脱后柱子中仍会有微量K⁺存在,并在4mol/L HNO₃洗脱时与Ca²⁺一起流出。我们在预实验中用ICP-AES检测了洗脱液中的K⁺浓度,结果发现改用15mL 0.8mol/L HNO₃进行洗脱,能够有效地将柱子中6mL 0.08mol/L HNO₃不能洗脱的微量K⁺洗脱下来,并且不影响Ca²⁺的定量回收,从而有利于测量灵敏度的提高。

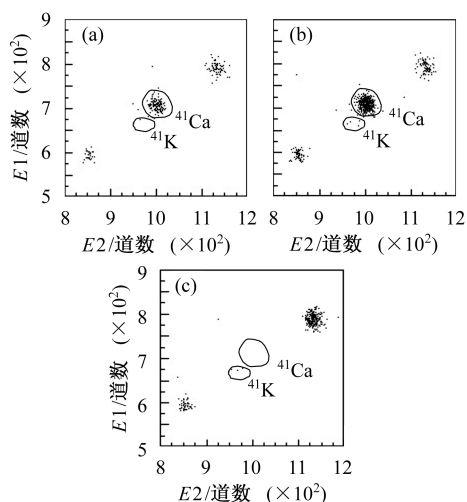


图 1 CaF_2 样品的 $E1/E2$ 二维能谱图
(a) 8.759×10^{-10} $^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 的标准样品; (b) ^{41}Ca 示踪大鼠粪样; (c) 大鼠股骨空白样.

AMS 直接测得的标准样品的 $^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 原子比的绝对值仅为标称值的 53.5%—71.7%，主要原因在于位

于气体电离室前端、紧靠 $7\text{mm} \times 7\text{mm}$ 的狭缝后面的 AMS 法拉第筒的有效面积比较大 ($\phi 15\text{mm}$), 对 ^{40}Ca 的接收效率很高, 而气体电离室入射窗与狭缝有 30cm 的距离, 入射窗与管道的同心度可能不够好, 造成了部分 ^{41}Ca 未进入电离室, 入射窗的支撑网也可阻止大约 10% 的 ^{41}Ca 离子进入电离室有效区. 此外, ^{41}Ca 与 ^{40}Ca 在传输中的同位素分馏效应也会造成测量值与标称值之间微小的偏差. 但 $^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 绝对测量值与标称值之间的线性关系良好 ($r^2 = 0.997$), 经 $^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 为 1.785×10^{-8} 的标准样品归一化后, S2, S4 标样的测量值与标称值吻合较好 (见表 1), 但 S3 标样的测量值与标称值的偏差达 34%. 在另一次束流时间对标样进行了重测, 结果发现 S3 标样仍然存在该较大偏差, 这说明 S3 的制备可能不够精确. 以上结果表明, 除 S3 标样的可靠性较差, 该系列标准样品可用作 HI-13 串列加速器 AMS 系统对 $^{41}\text{CaF}_2$ 样品测量的室内标准. 在 30min 的测量时间内, 空白生物样品的 ^{41}Ca 计数为零, 由此估算 $^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 本底值低于 8.2×10^{-13} .

表 1 ^{41}Ca 标准样品的 AMS 测定结果, S1 用作归一化测量值的参照

标准样品	$^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 标称值	$^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 测量值	$^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 归一化测量值
S1	1.785×10^{-8}	$(9.548 \pm 0.730) \times 10^{-9}$	$(1.785 \pm 0.137) \times 10^{-8}$
S2	3.301×10^{-9}	$(1.798 \pm 0.114) \times 10^{-9}$	$(3.362 \pm 0.213) \times 10^{-9}$
S3	8.759×10^{-10}	$(6.283 \pm 0.876) \times 10^{-10}$	$(1.175 \pm 0.164) \times 10^{-9}$
S4	1.750×10^{-10}	$(1.021 \pm 0.157) \times 10^{-10}$	$(1.908 \pm 0.293) \times 10^{-10}$

4 结论

建立了由生物示踪样品制备 CaF_2 靶样的化学分离和纯化流程, 在北京 HI-13 串列加速器质谱系统上对制备的标准样品和生物样品进行了测定. 结果显示归一化后的 4 个标准样品的测量值与标称值 ($^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 在 1.785×10^{-8} — 1.750×10^{-10} 范围) 基本

吻合 (S3 标样的测量值与标称值的偏差较大, 为 34%). 生物样品空白值低于 8.2×10^{-13} , 表明已成功建立了由生物样品制备 CaF_2 靶样, 在 HI-13 串列加速器的 AMS 系统上测定 $^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ 的方法. 该方法将能够继本实验室已实现的 CaH_2 AMS 方法^[6, 7]之后, 为 ^{41}Ca 示踪剂在生物医学中的进一步应用提供新的更简捷的技术支持.

参考文献 (References)

- Johnson R R, Berkovits D, Boaretto E et al. Nucl. Instrum. Methods, 1994, **B92**: 483—488
- Freeman S P H T, Beck B, Bierman J M et al. Nucl. Instrum. Methods, 2000, **B172**: 930—933
- JIANG Shan, HE Ming, DONG Ke-Jun et al. Nucl. Instrum. Methods, 2004, **B223/224**: 750—753
- Fink D, Middleton R, Klein J et al. Nucl. Instrum. Methods. Phys. Res., 1990, **B47**: 79—96
- Freeman S P H T, Serfass R E, King J C et al. Nucl. Instrum. Methods. Phys. Res., 1995, **B99**: 557—561
- DONG Ke-Jun, HE Ming, WU Shao-Yong et al. Chinese Phys. Lett., 2004, **21**(1): 51—53
- YUE Dong-Fang, DONG Ke-Jun, HE Ming et al. Atom. Energy Sci. and Tech., 2004, **38**(3): 271—274 (in Chinese) (岳东方, 董克君, 何明等. 原子能科学技术, 2004, **38**(3): 271—274)
- WU Shao-Yong, JIANG Shan, DONG Ke-Jun et al. J. Chin. Mass Spectr. Soc., 2002, **23**(4): 248—251 (in Chinese) (武绍勇, 姜山, 董克君等. 质谱学报, 2002, **23**(4): 248—251)

Measurements of ^{41}Ca in Biological Samples by Accelerator Mass Spectrometry Using CaF_2 Target*

LI Shi-Hong¹⁾ JIANG Shan HE Ming GUAN Yong-Jing DONG Ke-Jun WU Shao-Yong
YUAN Yuan MI Sheng-Quan LIU Shu-Tian YUAN Jian

(Department of Nuclear Physics, Chinese Institute of Atomic Energy, Beijing 102413, China)

Abstract For determining numbers of ^{41}Ca labeled biological samples, the analytical method of $^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ by Accelerator Mass Spectrometry (AMS) using CaF_2 target was developed at the Beijing HI-13 AMS system. ^{41}Ca in the biological samples and ^{41}Ca standard samples were prepared to CaF_2 with a more effective chemical separation and purification procedure. In the ^{41}Ca AMS measurement, CaF_3^- negative ion was extracted from ion resource, 7^+ charge state of particles was chosen after carbon foil stripping and accelerated at 8.5MV terminal voltage. ^{41}Ca ions were finally recorded by an 140mbar P10 gas filled multi-anode ionization chamber detector. The results showed that ^{41}Ca and the main isobar, ^{41}K could be clearly identified in the two-dimensional density spectra, and the interference of ^{41}K to ^{41}Ca was eliminated with the very low ^{41}K counting rate. The absolute measured values of 4 standard samples with $^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ in the range of 1.785×10^{-8} — 1.750×10^{-10} were in good linear relationship with the standard values ($r^2 = 0.997$). After normalized with the 1.785×10^{-8} $^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ standard, the measured values of S2 and S4 standard samples were in good agreement with the nominal values, however, the measured value of S3 deviated the nominal value largely. The $^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ of the biological blanks were estimated below 8.2×10^{-13} .

Key words ^{41}Ca , Accelerator Mass Spectrometry(AMS), CaF_2 , biological tracing

Received 4 March 2005

*Supported by National Natural Science Foundation of China (10405036)

1) E-mail: lishhchem@sohu.com