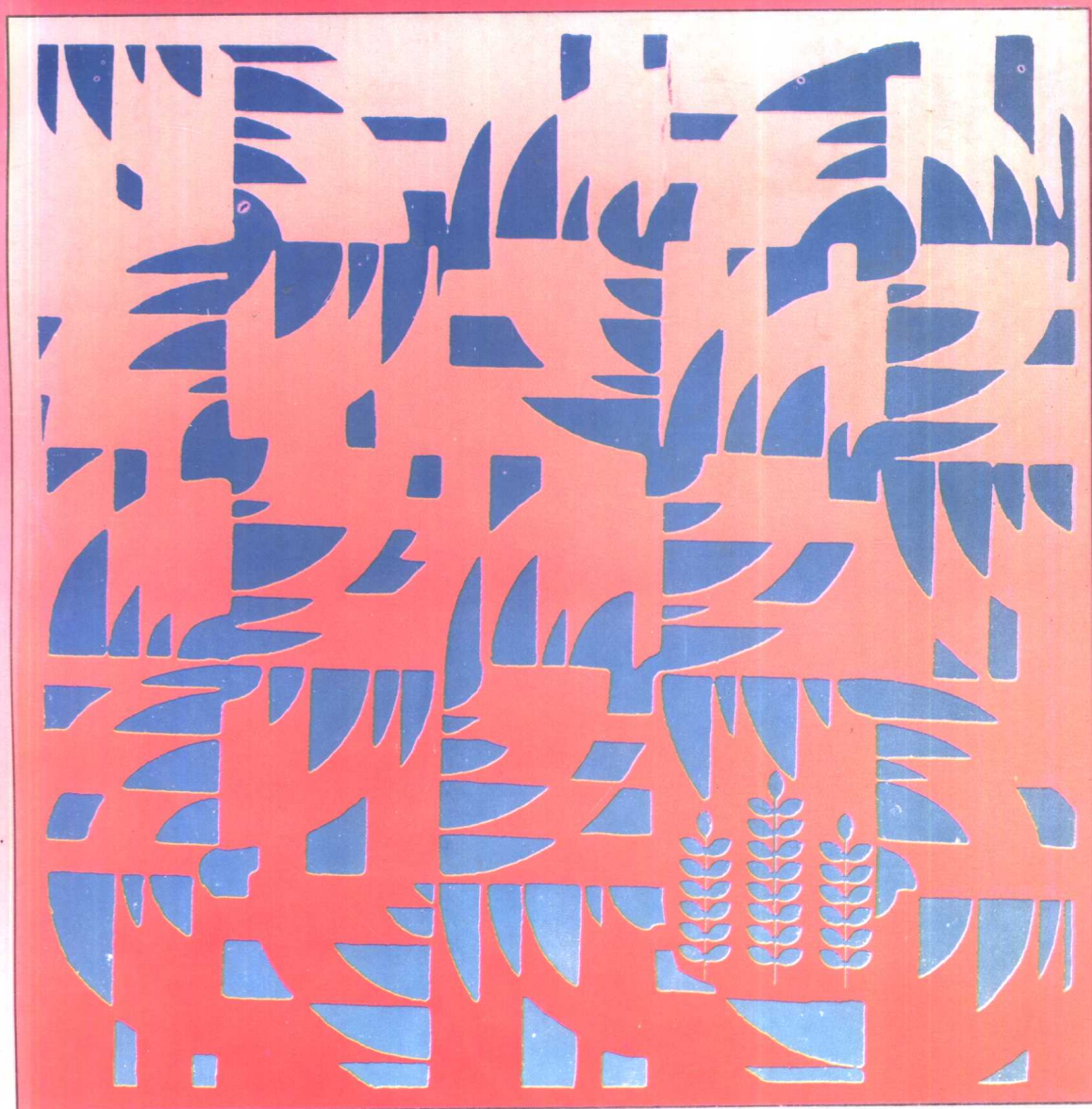


现代核分析技术及其 在环境科学中的应用

“现代核分析技术及其在环境科学中的应用”项目组 编著



原子能出版社

现代核分析技术及其 在环境科学中的应用

“现代核分析技术及其在环境科学中的应用”项目组 编著

原子能出版社
• 北京

(京)新登字 077 号

图书在版编目(CIP)数据

现代核分析技术及其在环境科学中的应用/“现代核分析技术及其在环境科学中的应用”项目组 编著. —北京:原子能出版社, 1994. 5

ISBN 7-5022-1171-3

I. 现… II. 现… III. 环境污染-核辐射光谱学-环境保护 IV. X591

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (94) 第 03628 号

内 容 简 介

本书介绍了分子活化分析、扫描质子微探针、高分辨率 X 射线谱学、加速器质谱学、核分析质量控制等现代核分析技术方法学及其在地球灾变环境、稀土元素生态环境、有机毒物和生物必需元素的体内环境及大气环境中的最新应用。综述了上述各领域中的国内外最新进展,提供了有重要科学价值的丰富资料。

本书可供科研院所、高等院校、科学技术管理部门从事核技术、环境学、生物医学和地学研究的广大专业人员和有关人员使用,也可作为大专院校有关专业教师、大学本科生和研究生的教学参考书。



原子能出版社出版发行

责任编辑:袁祖伟

社址:北京市海淀区阜成路 43 号 邮政编码:100037

北京四季青印刷厂印刷 新华书店经销

开本:787×1092mm 1/16 • 印张 17.75 字数 450 千字

1994 年 5 月北京第 1 版 1994 年 5 月北京第 1 次印刷

印数:1—1200

定价:19.00 元

前 言

本书主要围绕国家自然科学基金委员会“八五”重大项目“现代核分析技术研究及其在若干环境问题中的应用研究”(1994~1997, 编号 19392100)而撰写的。编著者意图反映现代核分析技术的若干活跃领域,以及环境科学中十分依赖于核分析技术的一些重要方面,综述国内外的最新进展,并展望其发展趋势。

众所周知,作为核技术众多分支学科中的一支——核分析技术,由于其灵敏度高、准确度和精密度好、可实现微区扫描及多元素分析等优点,而受到核技术及其它应用学科的科研人员的青睐。最近,国家自然科学基金委员会组织了全国几十位有关专家,编写成了“核技术”这一本带指导性的规划纲要,其中将核分析技术列为优先发展的重点领域。正因为如此,由高能物理研究所、北京大学、上海原子核研究所、复旦大学、地球化学研究所、地理研究所和原子能科学研究院 7 个单位的近百名科研人员承担了“现代核分析技术研究及其在若干环境问题中的应用研究”这一重大项目。作为这一项目组的第一部著作,其性质不是一部专著,而是一本综述。全书共分 11 章,各章名称及作者如下:

第 1 章 分子活化分析及其在环境和生命科学中的应用(孙景信,柴之芳)

第 2 章 核子微探针在环境科学中的应用(核子微探针组)

第 3 章 平面晶体波长色散位置灵敏谱仪(胡朝晖)

第 4 章 加速器质谱学(郭之虞)

第 5 章 中子活化分析在标准参考物质研究中的应用(田伟之)

第 6 章 核分析研究中心的生物环境标本库(柴之芳,章佩群)

第 7 章 微束分析标准样品和标准参考物的制备(邵涵如,徐清)

第 8 章 巨大撞击的灾变环境(林文祝,欧阳自远)

第 9 章 中子活化分析技术和稀土元素环境生物地球化学(章申,王立军,张朝生,刘书娟,王玉琦,李岫霞,孙景信,钱杏珍)

第 10 章 加速器质谱法在生物医学领域中的应用(李新松,刘元方)

第 11 章 加速器质谱计在大气环境研究中的应用(邵敏,李金龙,唐孝炎)

由于作者众多,且风格迥异,更由于上述 11 个方面的发展程度不同,因此要求全书在内容上和谐一致是不可能的,我们只力图保证每章自成体系。尽管如此,读者阅完全书后,仍可发现,论述核分析方法学的前几章与后面介绍应用的几章还是相互关联的。

在写作过程中,我们得到了国家自然科学基金委员会数理学部、化学部、地学部、生物学部和重大项目处以及承担本重大项目的 7 个单位领导的支持,编著者谨向他们表示衷心的感谢。原子能出版社的袁祖伟同志,为本书的编辑出版尽心尽力,编著者亦向他致以谢意。

柴之芳

1994 年 2 月 15 日于北京

总 目 录

第1章	分子活化分析及其在环境和生命科学中的应用	(孙景信, 柴之芳)	(1)
第2章	核子微探针在环境科学中的应用	(核子微探针组)	(23)
第3章	平面晶体波长色散位置灵敏谱仪	(胡朝晖)	(49)
第4章	加速器质谱学	(郭之虞)	(79)
第5章	中子活化分析在标准参考物质研究中的应用	(田伟之)	(129)
第6章	核分析研究中心的生物环境标本库	(柴之芳, 章佩群)	(139)
第7章	微束分析标准样品和标准参考物的制备	(邵涵如, 徐清)	(161)
第8章	巨大撞击的灾变环境	(林文祝, 欧阳自远)	(171)
第9章	中子活化分析技术和稀土元素环境生物地球化学		
	 (章申, 王立军, 张朝生, 刘书娟, 王玉琦, 李岫霞, 孙景信, 钱杏珍)		(199)
第10章	加速器质谱法在生物医学领域中的应用	(李新松, 刘元方)	(243)
第11章	加速器质谱计在大气环境研究中的应用	(邵敏, 李金龙, 唐孝炎)	(261)

第 1 章

分子活化分析及其在环境 和生命科学中的应用

孙景信 柴之芳
(中国科学院高能物理研究所)

目 录

一、引言	(3)
二、分子活化分析简介	(4)
1. 什么是分子活化分析	(4)
2. 常用的分离技术和核分析方法	(4)
3. 分子活化分析的特点	(5)
三、分子活化分析在环境和生命科学中的应用	(7)
1. 牛肾中微量元素的分子活化研究	(7)
2. 血液中微量元素的分子活化研究	(9)
3. Se 的分子活化分析	(10)
4. Cr 的分子活化分析	(14)
5. REE 的分子活化分析	(16)
6. Ir 的分子活化分析	(16)
7. 其它	(18)
四、小结	(18)
参考文献	(18)

一、引言

在环境科学和生命科学等领域中,对微量元素的研究迄今已大体上经历了两个阶段,第一阶段是揭示微量元素的存在及其重要性;第二阶段是研究微量元素的相关性、协同效应和拮抗效应等。在这两个阶段研究中,中子活化分析(NAA)、质子激发 X 射线荧光分析(PIXE)以及同位素稀释质谱法等核分析方法已作出了重要贡献。现在,微量元素的研究已发展到了第三个阶段,即对元素的赋存状态或化学形态方面的研究^[1]。

元素的化学形态分析(Speciation Analysis)在环境科学研究中早已引起科学家们的的高度重视。不同形态的污染物(元素)在环境体系中的化学行为不同,并表现出不同的污染效应。例如,六价铬具有强烈的毒性,而三价铬的毒性较弱;有机汞(如甲基汞)的毒性远远超过无机汞。因此,各种元素的毒性大小和有害与否,除与该元素在环境中存在的总量有关外,更重要的是取决于元素存在的化学形态^[2~4]。

同样,在生命科学领域中,为了深入研究和揭示微量元素在生物体内的分布、代谢及其生物效应和作用机制,对微量元素分析也提出了新的和更高的要求,即不仅要分析生物样品(如器官、组织和体液等)中的微量元素含量(元素的总量),而且还常常需要测定该样品的各种组成部分(Fraction)中的微量元素含量和分布,如微量元素在某些类型的细胞和亚细胞组分中,或者各种蛋白质、酶、核酸和糖等生物大分子中的含量和分布^[5~9]。

可以说,元素的赋存状态或化学形态的研究,是各相关学科深入发展的需要,并且成为当今微量元素研究中的一个重要发展趋势,图 1.1 示出了近 20 余年有关化学形态的论文的

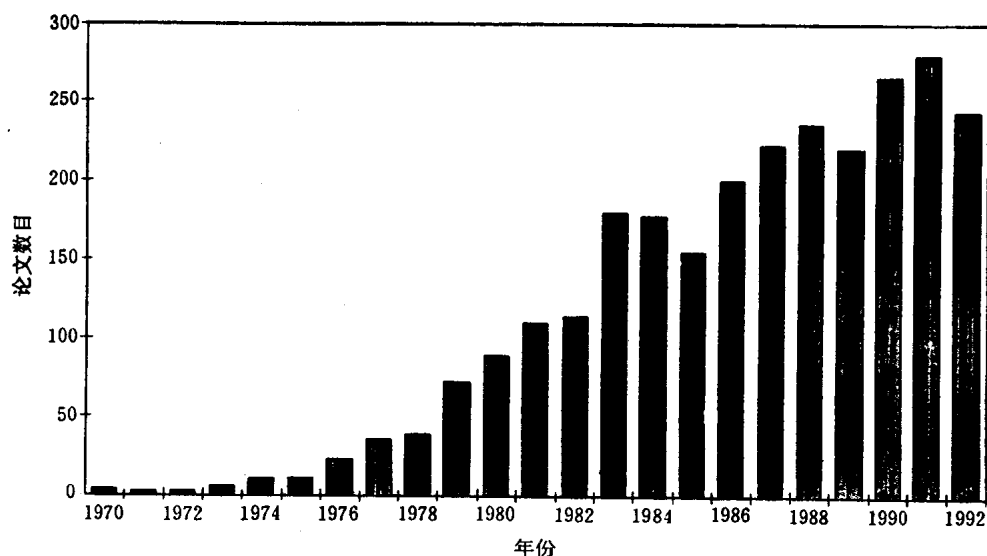


图 1.1 近 20 余年有关元素化学形态的研究论文的增长趋势
(据 Chemical Abstracts 统计^[10])

增长趋势;同时,也是对核分析技术提出的新的挑战。著名的加拿大核分析化学家 A. Chatt

最近指出：“微量元素赋存状态的研究是当今核分析科学面临的最棘手、但也是最重要的任务。如果能够明了元素的化学环境及其存在的形态，那么人们将来有可能按自身的愿望来改造世界。”

为了应付这种挑战，近年来分子活化分析得到了长足的进展^[11]。在近几年召开的国际核分析会议中也都把元素赋存状态的研究作为会议的重要议程。1988年和1991年在德国德累斯顿召开的第四和第五次核分析方法会议，1989年和1993年分别在美国华盛顿和捷克布拉格召开的两次生命科学中的核分析方法会议以及1990年在北京举行的活化分析国际会议等，都将元素的赋存状态研究作为重要专题进行了讨论。

本章将重点对分子活化分析的方法、特点及其在环境和生命科学中的应用作简单介绍。

二、分子活化分析简介

1. 什么是分子活化分析

所谓分子活化分析(Molecular Activation Analysis, MAA)，是指将某些特效的元素形态分离技术，如化学分离或生物化学分离等，与具有高灵敏度的 NAA、PIXE 等传统的核分析方法相结合，从分子或细胞水平上实现元素化学分析的一种现代核分析技术，也可以说，它是一种分子水平的活化分析^[1,11~15]。

众所周知，传统的核分析方法(NAA 或 PIXE 等)，通常只能给出大量有关环境或生物样品中各种微量元素的含量数据，而无法提供这些元素在该样品中存在的状态及化学形态方面的信息。然而，正如引言中所述，只有对生物体中微量元素的化学形态(包括价态)方面的深入分析和研究，才能有助于了解和阐明各种微量元素在重要的生命物质如蛋白质、酶、核酸等生物大分子的结构和功能中的作用，这对揭示微量元素的生物效应具有十分重要的意义。要达到上述目的，靠单一的核分析技术是不可能完成的，必须采取有效的形态分离与元素的灵敏测定相结合的技术，即分子活化分析技术。

自1986年首次提出分子活化分析这一术语以来^[11,12]，美国、加拿大、德国、意大利、匈牙利、澳大利亚和中国等科学家已发展了各种分子活化法，并在各种微量元素与蛋白质、酶和核酸等生物大分子结合和作用以及各种环境体系中微量元素的赋存状态等研究方面取得了许多令人瞩目的成果^[4~7,12~32]。

2. 常用的分离技术和核分析方法

为了研究生物样品中微量元素的化学赋存状态，如微量元素在细胞及亚细胞成分中的分布，以及微量元素与各种生物大分子(包括蛋白质、酶和核酸等)的结合，首先要将元素的不同形态组分进行有效的分离。对生物大分子来说，通常根据它们的大小、电荷、溶解度、迁移性及生物功能的专一性等进行分离、纯化和鉴定。在分子活化分析中常用于形态分离的技术有：超速离心分离、分子筛过滤、透析、电泳、硫酸铵沉淀、离子交换色层、高效液相色谱以

及共沉淀和化学逐步溶解(提取)技术等^[6,18,22,30]。有关具体的生化分离技术已出版了许多专著可供参考^[33~37]。

我们知道,微量元素在生物样品中的含量本身就很低,加之微量元素与生物大分子的作用和结合相当复杂,使得定量地分离和纯化这些生物大分子常常是很困难的,因此,最后所得到的可供分析的样品量极少。这样对微量元素的分析技术就提出了非常高的要求,必须满足以下几点^[18]:

- 1)灵敏度和准确度要高。要求达到 $10^{-9} \sim 10^{-12}$ g/g 量级,测定元素的含量范围要宽;
- 2)能够分析只有毫克量级(甚至更少)的固体或液体样品;
- 3)没有或很少受来自样品的基体和缓冲溶液等主要成分的干扰;
- 4)最好是非破坏性样品分析,这样可使宝贵的样品用别的方法再分析,或者用来测定其它成分。

中子活化分析(NAA)是一种可完全满足上述要求的最理想的元素测定方法^[13,15]。其主要优点是:

- 1)极佳的灵敏度、精密度和准确度;
- 2)多元素分析。可在同一样品中给出多种元素的化学形态方面的信息;
- 3)免除了试剂的空白;
- 4)不受基体元素的干扰;
- 5)非破坏性样品分析;等等。

除此之外,质子激发 X 射线荧光分析(PIXE)也是一种非常合适的微量元素分析技术^[26,27]。

有关 NAA 和 PIXE 等核分析技术方面详细的资料可参阅文献^[38,39]。

综合起来,近些年在环境和生命科学等领域中,对微量元素化学赋存状态方面的研究已有显著进展并成功地应用了与各种技术相结合的分子活化法,如离子交换色层法-NAA^[12,16,29]、共沉淀-NAA^[30,31]、化学逐步溶解(提取)法-NAA^[21,22,24,32]、超速离心分离技术-NAA^[15,23]、凝胶柱色层分离-NAA^[16~18]、聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)-NAA^[13,14,19]和 PAGE-PIXE^[26,27]等。

3. 分子活化分析的特点

归纳起来,分子活化分析(MAA)具有以下主要特点:1)灵敏度高,准确度好;2)用样量少(mg 级或更少);3)不破坏样品(INAA),在分析过程中可保持元素的化学形态不变;4)可同时提供多种元素的化学形态信息。可以看出,这充分继承了 NAA 等核分析技术的优点;同时,如下两个特点是对 NAA 方法的重要发展:1)从单纯的元素分析(NAA)发展到元素的形态分析(MAA);2)使微量元素的研究深入到了微观层次,即分子水平和细胞水平,可为相关学科研究提供更深层次的科学信息。

然而,分子活化分析也存在其特殊问题:1)在用 MAA 研究形态时,用化学或生化分离技术分离元素的不同形态过程中,不应当引起原始的化学形态变化,同时,也不能产生原先不存在的“新”的化学形态;2)在用生化技术分离、纯化各种蛋白质、酶和核酸等生物大分子过程中,必须充分考虑它们的稳定性和生物活性(尤其是对各种金属酶),一般均在低于 4℃

下进行;3)在形态分离过程中,要注意和防止来自环境、试剂和器皿等外界的元素污染及微量元素丢失。表 1.1 和表 1.2 例举了生化分离常用的各种试剂中几种元素的空白值。

表 1.1 生化分离用的试剂中 Zn 和 Cd 的含量

试剂	Zn($\mu\text{g/mL}$)	Cd($\mu\text{g/mL}$)
水	<0.00008	<0.00005
聚乙烯袋(溶出液)	<0.062	<0.0066
HEPES ¹⁾	<0.020	<0.040
蔗糖	<0.200	<0.030
LiOH	0.470 $\pm$ 0.100	<0.018
HCl	<0.250	0.030 $\pm$ 0.020
(NH ₄) ₂ SO ₄	<0.061	<0.038
Sephadex G-150(葡聚糖凝胶)	<0.060	<0.080
冰醋酸	<0.030	<0.020
浓氨水	0.288 $\pm$ 0.042	<0.004
DEAE Sephadex A-50	0.070 $\pm$ 0.012	<0.062
(二乙氨基乙基葡聚糖)		
TRIS ²⁾	<0.070	<0.030
NaCl	0.010	0.100
咪唑缓冲液	0.160 $\pm$ 0.030	<0.018
生物凝胶	0.540 $\pm$ 0.40	<0.200
β -丙氨酸	<0.070	<0.091
H ₃ PO ₄	2.40 $\pm$ 0.80	<0.170
H ₂ SO ₄	<0.200	<0.02

注,1)HEPES 为 N-2-羟乙基哌嗪-N'-2-乙烷磺酸;

2)TRIS 为三羟甲基氨基甲烷。

表 1.2 制备面积为 15cm $\times$ 15cm 大小的聚丙烯酰胺凝胶所用每种试剂中的微量元素含量

试 剂	Cr(ng)	Fe(μg)	Co(ng)	Zn(ng)
丙烯酰胺(胶 1)	355	16	87	560
双丙酰胺(胶 1)	4.0	0.825	2.22	44
缓血酸胺(胶 1)	50	2.0	18	83
(胶 2)	125	20	58	640
缓血酸胺-HCL(胶 1)	170	n. d.	17.4	—
(胶 2)	46	n. d.	35	122
十二烷基磺酸钠(胶 1)	43	n. d.	n. d.	—
(胶 2)	16	n. d.	n. d.	—
过硫酸铵(胶 1)	28	0.180	1400	10
缓冲液中甘氨酸(胶 1)	3400	n. d.	561	—
缓冲液中十二烷基磺酸钠(胶 1)	2040	n. d.	n. d.	—
缓冲液中缓血酸胺(胶 1)	200	8.3	70	330
每块凝胶(最坏情况)	720	36	1600	1380
单位面积凝胶中的元素总量(ng/cm ²)	3.2	160	7.0	6.1

注:—为未检测到。

三、分子活化分析在环境和生命科学中的应用

在现已发表的分子活化分析应用论文中,主要集中在环境和生命科学方面,例如利用分子活化法研究生物必需元素或有毒元素在环境介质中的化学赋存状态,研究微量元素与蛋白质、酶及核酸等生物大分子的结合和作用,以及它们在细胞内或亚细胞组分中的分布,研究微量元素在环境与生物之间、以及生物体内部各器官和体液之间的转移与元素化学形态的关系等。分子活化分析在这一应用领域内的新成果丰富了人们对微量元素的环境效应和生物效应的本质的认识,同时又提出了大量新的课题,有待用分子活化分析法去研究。本节先叙述牛肾(作为动物器官的一个代表)和血液(作为生物体液的代表)中微量元素的分子活化研究结果,然后依次介绍一些重要微量元素(Se,Cr,稀土元素及Ir)的分子活化分析工作。

1. 牛肾中微量元素的分子活化研究

C. K. Jayawickreme 和 A. Chatt^[6,15~18] 利用各种生物化学分离技术与 INAA 相结合的分子活化法,深入和系统地对牛肾中各种微量元素的化学赋存状态进行了研究。采用的生化技术包括有:超速离心分离、透析、pH 梯度提取、硫酸铵沉淀、阴离子或阳离子交换柱色层、凝胶柱色层、羟基磷灰石色谱、聚丙烯酰胺凝胶电泳、等电聚焦和等速电泳等等。

首先,他们采用超速离心分离-INAA 研究了牛肾亚细胞成分(包括:细胞核、线粒体、溶酶体、微粒体和胞液等)中 16 种微量元素的分布状态(见表 1.3)。透析实验结果表明,Ca、Cd、Cu、Fe 和 Zn 的 95% 以上及 75%~90% 的 Mg、Mo、S 和 Se 等微量元素以生物大分子(主要是蛋白质)形式存在。然后,通过进一步的分离、纯化和鉴定,在细胞核和上清液部分发现有 3 种镉结合蛋白[其分子量 MW 分别为:13000,32000 和 >300000D(道尔顿)]、4 种锌结合蛋白(MW:27000,89000,260000 和 >300000D)、1 种含铜蛋白(MW=30000D)及 1 种砷蛋白(MW:27000D)。此外,在细胞核组分中还发现 3 种硒蛋白(MW:30000,70000 和 80000D)。上述有些微量元素的结合蛋白,是以前不曾报道过的。图 1.2 和图 1.3 分别示出了他们用分子活化法获得的若干微量元素(Zn,Cd,Cu,Mn,Mo)结合蛋白在 Sephadex G-150 凝胶柱和等电聚焦色层柱上的洗脱曲线。

表 1.3 用分子活化分析法测得的牛肾的亚细胞组分
中的微量元素含量($\mu\text{g/g}$, 另有注明者除外)

元素	细胞核	线粒体	溶酶体	微粒体	细胞液
Br	27.8 ± 2.0	5.41 ± 0.27	5.32 ± 0.65	3.36 ± 0.35	72.9 ± 10.0
Ca	603 ± 86	367 ± 61	527 ± 67	481 ± 54	376 ± 83
Cd	<1.01	0.88 ± 0.43	1.04 ± 0.38	<1.11	2.14 ± 0.19
Cl(%)	0.244 ± 0.014	0.155 ± 0.020	0.161 ± 0.011	0.096 ± 0.012	2.4 ± 0.22
Cr	2.32 ± 0.48	<0.26	<0.55	<0.35	0.34 ± 0.12
Cu	13.7 ± 2.9	23.2 ± 3.0	6.91 ± 2.27	10.1 ± 2.5	26.2 ± 4.8
Fe	222 ± 26	256 ± 19	203 ± 28	884 ± 37	308 ± 28.4
K(%)	0.324 ± 0.038	0.279 ± 0.041	0.307 ± 0.020	0.290 ± 0.024	2.85 ± 0.13
Mg	547 ± 92	558 ± 41	582 ± 64	624 ± 90	725 ± 155
Mn	5.33 ± 0.67	6.53 ± 0.71	4.75 ± 0.43	5.52 ± 0.55	8.86 ± 1.27
Mo	1.31 ± 0.41	4.32 ± 0.31	2.16 ± 0.45	1.35 ± 0.31	1.44 ± 0.26
Na(%)	0.350 ± 0.022	0.235 ± 0.038	0.272 ± 0.024	0.212 ± 0.015	2.28 ± 0.12
Rb	3.52 ± 0.67	2.21 ± 0.42	3.20 ± 0.53	2.39 ± 0.64	28.2 ± 3.5
Se	9.40 ± 0.57	1.08 ± 0.11	0.86 ± 0.16	1.08 ± 0.15	1.27 ± 0.21
V	<0.057	<0.041	<0.038	0.058 ± 0.028	<0.12
Zn	86.7 ± 4.8	89.8 ± 8.2	102 ± 7	107 ± 12	131 ± 11

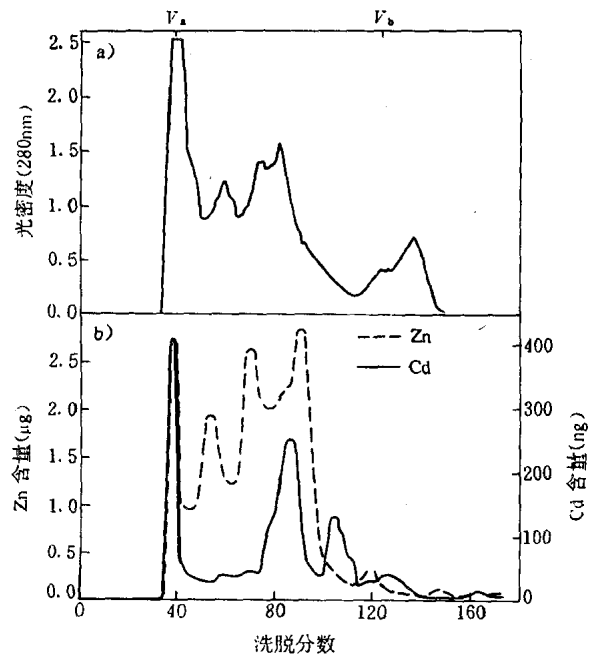


图 1.2 Zn 和 Cd 结合蛋白在 Sephadex G-150 凝胶柱上的色层洗脱曲线

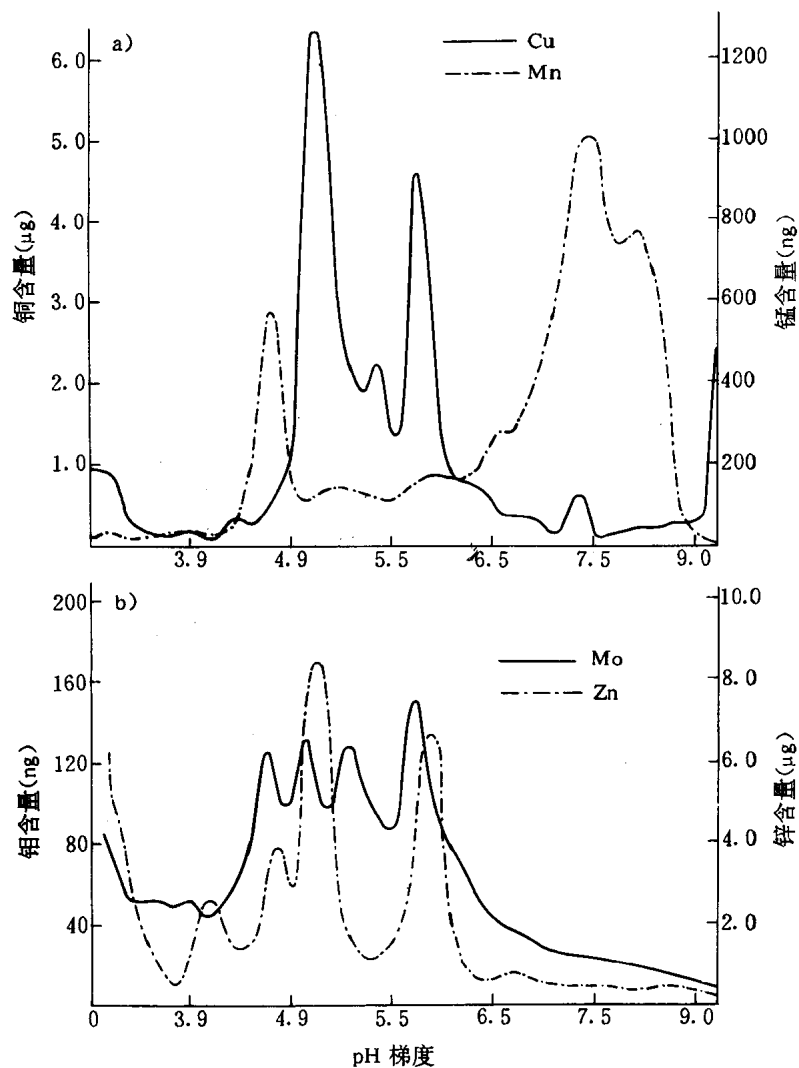


图 1.3 Cu,Mn,Mo,Zn 的结合蛋白的等电聚焦分布模式

2. 血液中微量元素的分子活化研究

分子活化分析的灵敏度高,因此可用来研究血液、甚至血清中微量元素的化学赋存状态。表 1.4 列出了用分子活化法得到的人血和人血清中微量元素与蛋白质的结合情况^[40]。由表中结果可见,Na,Cl,Cu,I 和 V 主要存在于血清中;K,Zn,Fe,Rb,Mn,Co 和 Cs 基本上处于细胞内部;Mg,Se,Sb 和 Br 在血清和细胞中的含量大体相等。表中数据还指出,在所研究的 16 种元素中,Zn,Cu,Fe,I,Se,Mn 和 Co 基本上均以结合蛋白形式存在于血液中。分子活化的这一研究结果丰富了对血液中微量元素生物效应的认识,并且使以前的定性认识上

升到定量水平。关于这 16 种元素在血液中的化学形态及其生物效应的详细讨论可参阅文献 [40]。这里要强调的是,若不用分子活化分析法,是难以、甚至无法给出 I,Rb,Br,Cs,Mn,Co,V,Sb,Se 等元素在血液中的赋存状态的,因为它们在血液及其组分中的含量很低,用其它分析手段很难满足所需的分析灵敏度。

表 1.4 人血及其组分中微量元素的分子活化分析结果

元素	在血液中的 总量(mg)	血清中含量 全血中含量 (%)	结合蛋白 百分比含量 (%)
Na	500	92	0
Cl	15400	71	0
K	8600	7	0
Mg	200	44	<10
Zn	40	9	100
Cu	5.4	66	100
Fe	2400	0.1	100
I	0.3	65	约 90
Se	0.9	40	≥80
Rb	10	4	0
Br	25	46	约 2
Mn	0.05	4	100
V	0.0003	70	未知
Sb	0.024	36	未知
Cs	0.015	17	未知
Co	0.0021	32	100

3. Se 的分子活化分析

1957 年,Schwarz 发现硒是一个生物必需元素。大量研究表明,许多疾病与缺硒有关,最典型的疾病是我国科学工作者报道的克山病和大骨节病,这是迄今已证实的人类与缺硒有关的疾病;由缺硒引起的动物疾病是白肌病,现还发现硒与免疫功能、生殖能力、癌症等有关。自 1971 年由 Portruck 等发现硒是谷胱甘肽过氧化酶的活性组分后,对硒的代谢和功能作用,以及是否还存在其它的含硒酶或蛋白等的研究工作一直十分活跃。许多学者利用分子活化分析法研究了生物和环境样品中硒的化学形态。

Blotcky 和 Hansen^[12]发展了一个分子活化分析流程(见图 1.4),测定了尿中的三甲基硒(TMSe)和亚硒酸根(SeO_3^{2-})离子。该流程基于简单的阴离子交换柱色层分离,选择性淋洗并收集 TMSe 和 SeO_3^{2-} 组分,然后进行 INAA。在热中子注量率为 $3.1 \times 10^{11} \text{ n}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$ 下照射 20s,通过 $^{75\text{m}}\text{Se}$ 核素对 Se 进行定量测定,分析灵敏度可达约 ng/mL ,利用该方法可对人体尿液中有机硒(TMSe)、无机硒(SeO_2 , SeO_3^{2-})及总硒含量等进行常规分析,为硒的代谢

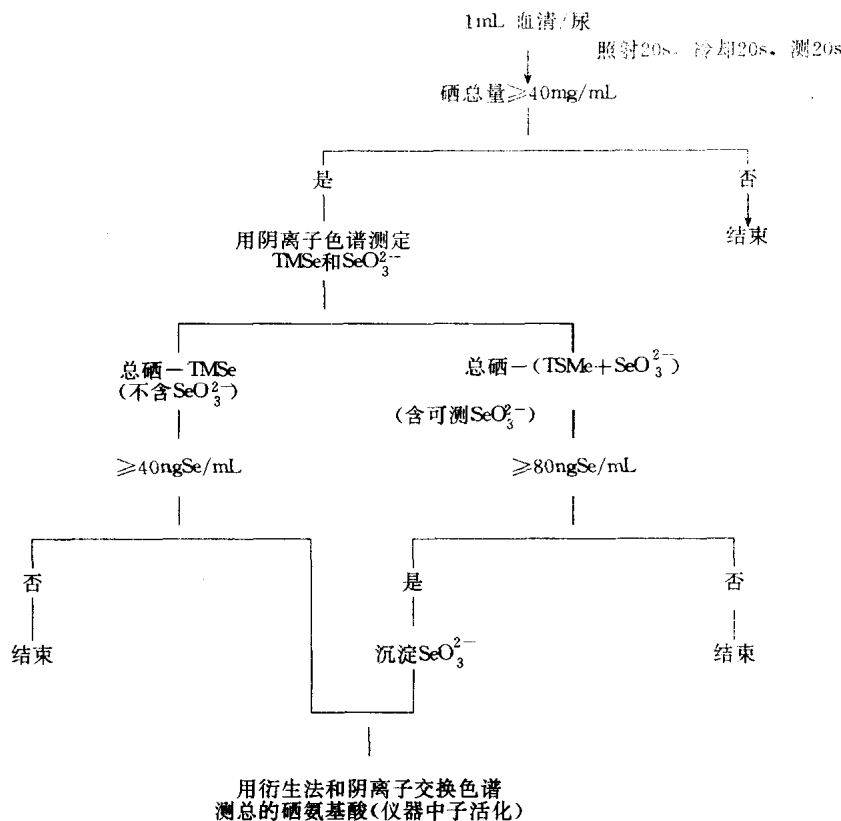


图1.4 用于研究尿中硒化学形态的分子活化分析流程

提供主要数据。图 1.5 给出了阴离子交换分离 TMSe 和 SeO_3^{2-} 的淋洗曲线图。

D. Behne 等人^[19,20]利用 INAA、放射性 ^{75}Se 标记和 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)等技术,对大鼠体内硒的代谢及硒结合蛋白等进行了详细和深入的研究。通过对 Se 的含量及硒谷胱甘肽过氧化酶(GSH-Px)在各脏器中活性的测定,发现尽管 Se 在各种脏器中均有分布,但硒结合酶在红细胞和肝中最高,在肌肉、脑和睾丸等组织中很低;根据对与酶结合 Se 的总量的计算,发现在大鼠体内只有少部分(不到一半)的 Se 是以 GSH-Px 形式存在,其余硒在体内的存在形式及是否还有别的含硒酶,还有待研究。这一研究结果具有重大意义,从而导致许多研究者致力于体内各种含 Se 蛋白质的分离研究,以期发现新的含硒酶。他们借助于给极度缺 Se 的大鼠补充少量 ^{75}Se 标记的亚硒酸盐,并用 SDS-PAGE 电泳方法分离标记过的各种脏器组织的匀浆,发现除含 Se 的谷胱甘肽过氧化酶以外,还检测到近 20 余种新的含硒蛋白或蛋白亚基(该作者先期报道发现 12 种新的含硒蛋白,见表 1.5 中所列^[41])。特别是有一种含硒蛋白,只存在于甲状腺中(相对分子质量为 27000D),与 I 型碘化甲状腺氨酸脱碘酶(iodothyronine deiodinase)的亚基相同,它在甲状腺激素代谢过程中起着关键作用,已被确认是一种新的含硒酶。其它含硒蛋白,如相对分子质量为 34000D 的蛋白可能在睾丸中起重要作用,目前正在研究之中。

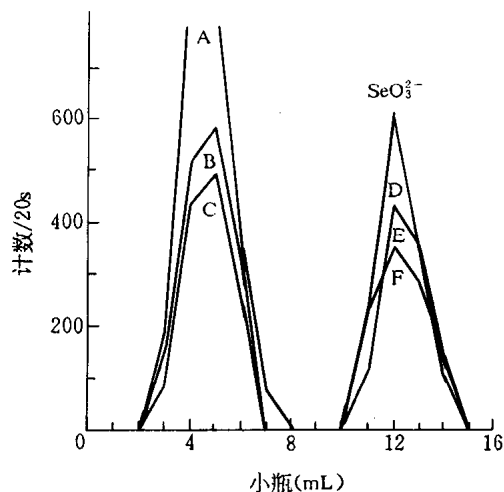


图 1.5 阴离子交换柱色层分离尿液中 TMSe 和 SeO_3^{2-} 的淋洗曲线

表 1.5 鼠组织中的含硒蛋白或蛋白亚单元

蛋白	相对分子质量	蛋白	相对分子质量
1 + + +	12100±500	8 +	33300±1300
2 + + +	15600±300	9 + +	55500±1300
3 + + +	18000±300	10 + + +	59900±2200
4 + + +	19700±400	11 + + +	64900±1200
5 +	22200±600	12 +	70100±1300
6 + + +	23700±700	13 + +	75400±2300
7 +	27800±400		

注:13 种蛋白以相对分子质量增加顺序排列,相对分子质量单位为 D(道尔顿);1 个+号表示在部分组织中存在;2 个+号表示在大部分组织中存在;3 个+号表示在所有组织中均存在。

A. Chatt 和 C. K. Jayawickreme^[4,5]利用超速离心分离技术与 INAA 相结合,研究了牛肾亚细胞组分(包括:细胞核、线粒体、溶酶体、微粒体和胞液等)中 16 种微量元素的分布。其中发现约有 75% 的硒在细胞核组分异常富集。通过变化 pH 进行深入研究,发现在 pH=9.5 组分中存在三种新的含硒蛋白,并分别被称为含硒蛋白 C1、C2 和 C3。它们的 Se 含量和相对分子质量分别为:1200 $\mu\text{g/g}$, 30000D; 270 $\mu\text{g/g}$, 70000D 和 3600 $\mu\text{g/g}$, 80000D。

田继兵和柴之芳等^[23]利用离心分离等生化技术与 NAA 相结合,对我国高硒地区和正常区玉米中的白蛋白、球蛋白和醇溶蛋白中硒的含量进行了分析(蛋白分离流程如图 1.6 所示)。发现,在高硒地区玉米中,Se 主要存在于球蛋白(102.7 $\mu\text{g/g}$)和白蛋白(52.5 $\mu\text{g/g}$)中;在正常地区,Se 主要存在于球蛋白(4.05 $\mu\text{g/g}$)和醇溶蛋白(0.48 $\mu\text{g/g}$)中;而在白蛋白中未测到 Se(见表 1.6)。