

액체 섬광 계수를 위한 식물체 시료 조제방법

柳長杰, 宋成俊

Plant Sample Preparation for Liquid Scintillation Counting

Zang-Kual U., and Sung-Jun Song

Summary

Quenching is very important factor for liquid scintillation counting and depends on the sample preparation method, especially when soft-beta emitters such as H-3, C-14, S-35 are used as a tracer.

Unstability of natural background and quenching caused by the different sample preparation procedures were discussed.

1. The background level of plant samples appeared to increase by NCS treatment because of the chemical luminescent effect. Higher than 10000 cpm of background, especially in case of the fresh plant sample, was observed after 24 hours keeping the counting samples in the dark place. Although most of this high background disappeared after 5 days leaving, NCS treatment for the plant sample preparation in liquid scintillation counting proved not to be desirable.
2. The samples prepared by ashing or 95% alcohol extraction showed much low background counting.
3. A proper dilution should be done to reduce the degree of color quenching when plant leaves are extracted by 95% alcohol or treated by NCS.
4. The plant samples from the water culture generally gave higher background counting than those from the soil culture, though the reason could not be understood at present.

서 론

C-14, H-3, S-35등은 식물의 양, 수분 흡수 및 대사를 연구하기 위하여 추적자로서 많이 사용되고 있다. 이러한 핵종들은 낮은 에너지를 갖는 베타 선을 방출하기 때문에 방사능 측정을 위한 시료 조제를 하는 데 있어서 몇가지 사항을 특별히 유의해야 한다. 즉 시료 준비에 수반되는 소광(quenching)의 영향을 최소한도로 줄여야 할 것이며, 가능한 낮

은 자연 계수율을 얻는 조건에서 계측되어야 한다는 것이다.

본 실험에서는 토경 수경 사경등의 식물의 생육 방법 그리고 시료의 조제 방법 즉 알코올 추출, NCS(Tissue solubilization for liquid scintillation counting, Amersham 회사제품) 처리, 건식 분해에 따른 자연 계수율의 변화와 소광의 정도를 조사해 봄으로써 식물체에 추적자를 이용하는 계반 실험의 방사능 측정시료 조제 방법을 정립키 위한 기초 자료를 제공하고자 수행되었다.

*제주대학교 논문집 제17집(1984)에 게재됨.

재료 및 방법

1. 공시 시료의 준비

가. 사경 및 수경 재배

보리와 옥수수 종자를 25°C의 항온기에서 발아시킨 후 발아율이 좋은 것만을 선택하여 희 염산 용액으로 세척된 석영 모래를 담은 플라스틱 pot (20×20×10. L×W×Hcm)에서 5~6일 정도 재배한 다음, 일부는 Table 1과 같은 수경액에서 7일 정도 수경 재배를 하는 한편, 나머지는 사경에서 같은 수경액을 사용 동기간 재배하였다.

나. 토양 재배

발아된 종자를 제주대학교 농과대학 실습장에서 채집한 화산회 갈색 토양(오라통)¹⁾ 1kg을 담은 플라스틱 원형pot(16×14, D×Hcm)에 이식시켜 2주간 재배하였다.

Table 1. Composition of nutrient solution for sand and water culture.

| Composition | ml/1 |
|----------------------|------|
| 1M KH_2PO_4 | 4 |
| 1M $Ca(NO_3)_2$ | 10 |
| 1M $MgSO_4$ | 4 |
| $10^{-3}M$ $CuSO_4$ | 0.3 |
| $10^{-3}M$ $ZnSO_4$ | 0.8 |
| $10^{-3}M$ $MnCl_2$ | 9 |
| $10^{-2}M$ H_3BO_3 | 5 |
| $10^{-3}M$ Fe-EDTA | 5 |

다. 잔디와 클로바는 농과대학 실습장 부근에서 채집하였다.

2. 방사능 계측을 위한 시료의 조제

가. 알코올 추출

보리와 옥수수의 잎과 뿌리를 생체중으로 약 0.5

~1g을 50ml 삼각 플라스크에 취하고 여기에 95% 알코올 15ml를 가하여 15분 동안 추출하여 상등액을 취한 뒤 95% 알코올 10ml로 두번 더 반복 추출하였다.

나. NCS(Tissue solubilization for liquid scintillation counting, Amersham 회사제품) 처리

(가)의 방법으로 추출하고 남은 잔유물 또는 보리와 옥수수의 잎과 뿌리에 0.6N NCS 3ml를 가하여 약 40~50°C 정도의 수욕상에서 90분 동안 처리하고 상온에서 24시간 냉각하였다.²⁾

다. 건식 분해(회화법)

보리와 옥수수의 잎과 뿌리를 생체중으로 0.5~1g을 crucible에 취하고 450°C의 전기로에서 4~5시간 정도 가열 완전 회화시켰다.³⁾

3. 방사능 측정

가. 액체 섬광 계수기에 의한 측정

(2-가)의 방법으로 추출된 시료 1ml를 계측 용기에 취하여 Bray's scintillation cocktail 9ml를 가하였으며, (2-나)의 방법으로 처리된 시료에는 직접 Bray's scintillation cocktail 9ml를 가하여 1시간 동안 진탕후 상등액을 계측 용기로 옮겼다. (2-다)의 방법으로 처리된 시료를 계측 용기에 옮기고 증류수 1ml를 가하여 적신 다음 Bray's scintillation cocktail 9ml를 가하였다. 이와 같이 준비된 시료들은 약 15시간 동안 어두운 곳에 두었다가 외부표준선원법(External Standard Channel Ratio Method)을 이용 10분간 측정하였다. 계측에 사용된 기기는 액체 섬광 계수기(Liquid Scintillation Counter, BF 810, Berthold)이었다.

나. r-Spectroscopy에 의한 측정

NCS로 처리된 시료는 well-type 섬광 검출기 [NaI(Tl)]를 사용하여 multichannel analyzer(BS 27/N, Silena)로 5분간 측정하였다.

다. GM-counter에 의한 측정

NCS로 처리된 시료 용액 1ml를 planchet에 넣고 적외선 램프를 이용 건조시킨 후 10분 동안 측정하였고, 한편, 잔디와 클로바의 생체 및 건물체들도 10분동안 측정하였다. 계측에 사용된 기기는 GM-counter (LB 2711, Berthold)였다.

결과 및 고찰

1. 알코올 추출

토경과 수경으로 생육된 보리와 옥수수의 잎과 뿌리를 알코올로 추출한 후 측정한 결과 Table 1에서 보

Table 2. Observed counts per minute of the sample solutions extracted by 95% alcohol from barley and corn. (cpm/g fresh weight)

| Plants | Pot culture | Water culture |
|--------------|-------------|---------------|
| Barley shoot | 62 | 88 |
| root | - | - |
| Corn shoot | - | 448 |
| root | - | 219 |

- : Background level

는 바와 같이 수경 재배의 경우가 pot에서 재배한 경우보다 계측치가 높았으며, 보리보다는 옥수수에서 높게 나왔다.

2. NCS 처리

알코올 추출이 끝난 잔유물을 다시 NCS 처리하여 이를 측정한 결과 Table 3에서 보는 바와 같이 시료의 잎에 있어서는 pot재배가 수경보다 높고 뿌

리에 있어서는 그와 반대 현상을 보였으며, 잎보다 뿌리에서는 6~70배 높은 계측치를 보였다. Table 3의 External Standard Channel Ratio (ESCR) 값들이 모두 영으로 나타난 것은 시료와 NCS처리로부터 생성된 녹색(잎) 또는 연한 갈색(뿌리)에 기인하여 색소광(color quenching)이 많이 일어났기 때문이다.

Table 3에서와 같이 방사성 물질을 첨가하지 않은 조건에서 생육된 식물체 시료에서 높은 계측치가 관

Table 3. Observed counts per minute of the plant residues treated with NCS. (cpm/g fresh weight)

| Plants | ESCR | cpm | ESCR | cpm |
|--------------|------|------|------|------|
| Barley shoot | 0 | 639 | 0 | 227 |
| root | 0 | 3774 | 0 | 4627 |
| Corn shoot | 0 | 116 | 0 | 47 |
| root | 0 | 2445 | 0 | 3583 |

찰되었는데, 이 현상은 실제 어떤 핵종이 존재하여 계측되는 것인지 혹은 시료와 NCS간의 어떤 화학 작용에 의하여 발생하는 섬광때문에 계측되는 것인

지에 대해 알아보기 위해 아래와 같은 추가 실험을 진행하였다. 즉 수경, 토경, 사경을 통해 재배된 식물체에 NCS 처리를 하여 측정해 본 결과 Table 4

Table 4. Observed counts per minute of the plant samples treated with NCS. (cpm/g fresh weight)

| Plants | Water culture | | Pot culture | | Sand culture | |
|--------------|---------------|-------|-------------|-------|--------------|-------|
| | ESCR | cpm | ESCR | cpm | ESCR | cpm |
| Barley shoot | 0 | 1449 | 0 | 956 | 0 | 1861 |
| root | 0 | 22382 | 0 | 10994 | 0 | 26376 |
| Corn shoot | 0 | 338 | 0 | 494 | 0 | 371 |
| root | 0 | 13324 | 0 | 3997 | 0 | 15674 |

에서 보는 바와 같이 수경과 사경에서 생육된 식물체가 토경의 것보다 더 많은 계측치를 보였고, 한편, 옥수수보다 보리에서 더욱 높았다. 잎보다도 뿌리에서 8-42배 정도 높게 계측된 것은 뿌리보다 잎에서 더욱 강한 색소광(color quenching)이 발생되었기 때문일것으로 생각된다.

그 다음, 이 시료로부터 r선 발생 여부를 확인코저 NaI(Tl) 섬광 검출기로 계측하고, 동시에 GM counter를 이용 베타선 측정을 해 본 결과 모두 자

연계수치 수준으로 나타났다. 그리고 액체 섬광 계수치와 channel ratio와의 관계를 알아보기 위하여 액체 섬광 계측에 사용했던 시료로부터 100 μ l 을 뽑아 계측 용기에 넣고 cocktail 9ml을 첨가하여 측정하고 24시간후에 다시 100 μ l 을 첨가하여 측정했고 48시간후에 이를 한번 더 반복하여 측정해 본 결과는 Table 5에서 보는 바와 같이 external standard channel ratio는 color quenching에 의해서 감소되었으나, 계측치는 거의 변하지 않았다.

Table 5. Change of ESCR and observed counts when each 100ul of the sample solution having a high cpm was added to the 9ml of Bray's cocktail successively.

| plants and Tissues | Method of Culture | Volumes added | | | | | |
|--------------------|-------------------|---------------|------|--------|------|--------|------|
| | | 100 ul | | 200 ul | | 300 ul | |
| | | ESCR | cpm | ESCR | cpm | ESCR | cpm |
| Barley shoot | Water | 1.478 | 33.1 | 1.159 | 28.4 | 0.882 | 32.4 |
| | Pot | 1.484 | 33.3 | 1.188 | 31.4 | 0.899 | 37.4 |
| | Sand | 1.509 | 32.4 | 1.254 | 31.0 | 0.018 | 26.6 |
| Barley root | Water | 1.754 | 40.0 | 1.625 | 33.3 | 1.547 | 37.2 |
| | pot | 1.701 | 42.1 | 1.537 | 39.6 | 1.367 | 42.2 |
| | Sand | 1.770 | 37.4 | 1.623 | 34.4 | 1.536 | 37.0 |
| Corn shoot | Water | 1.341 | 32.0 | 0.931 | 31.7 | 0.478 | 27.4 |
| | Pot | 1.437 | 33.6 | 1.095 | 33.2 | 0.737 | 31.1 |
| | Sand | 1.357 | 32.3 | 0.921 | 29.9 | 0.461 | 30.1 |
| Corn root | Water | 1.697 | 39.5 | 1.533 | 36.7 | 1.399 | 34.4 |
| | pot | 1.657 | 37.6 | 1.463 | 39.9 | 1.309 | 33.2 |
| | Sand | 1.682 | 42.2 | 1.537 | 41.8 | 1.405 | 34.4 |

이상의 계측결과는 식물체 시료중 어떤 방사능 물질도 존재하지 않고 있음을 시사해주는 것으로 단지 NCS와 식물체 상호작용의 차이 그리고 시료의 조성(수분함량, 有色物質存在여부등)에 따라서 높은 계측치가 관찰된 것으로 밝혀졌다.

시료를 생체상태와 건물체를 만들어 NCS 처리에 따른 차이를 비교하기 위해서 생체중으로 취한 동등한 양의 시료를 생체와 건물체로 나누어 NCS로 처리

하여 Bray's cocktail을 사용 측정된 결과 Table 6에서 보는 바와 같이 건물체보다 생체 시료가 높은 계측치를 나타내었다. 즉 잎에서는 약 2배, 뿌리에서는 5~10배나 높았다.

환경 방사능은 자연계에서 발생하는 방사능과 인공적으로 가해지는 방사성 물질에 의한 것으로 지역적인 차이가 크며 식물체내에 흡수된 양은 일반적으로 매우 적다. 대학 농장주위의 잔디와 클로바에 대

Table 6. Comparison of counts per minute of the sample solutions when fresh and dried corns were treated with NCS. (cpm/g fresh weight)

| Plant | Method of culture | Fresh | | Dried | |
|------------|-------------------|-------|-------|-------|------|
| | | ESCR | cpm | ESCR | cpm |
| Corn shoot | Water | 0 | 507 | 0 | 245 |
| | Pot | 0 | 975 | 0 | 524 |
| | Sand | 0 | 694 | 0 | 510 |
| Corn root | Water | 0 | 12291 | 0 | 1060 |
| | Pot | 0 | 5741 | 0 | 2299 |
| | Sand | 0 | 27042 | 0 | 4263 |

해 환경 방사능 집적 유무와 시료 조제따른 자연 방사능 계측치의 변이도를 알기 위해서 생체상태에서 GM counter에 의해 측정하였는데 Table 7에서 보는 바와 같이 background 수준이었다. 이 시료를 가지고 일부는 건물체로서 나머지는 생체로 NCS

처리를 하여 액체 섬광 계수기로 측정된 결과는 Table 7에서 보는 바와 같이 잔디는 생체가 건물체보다 2~10배 높은 계측치를 보였으며, 클로바는 건물체가 생체보다 2배 높은 계측치를 보였다.

한편, 계측 용기에 들어있는 이 시료를 5일간 연

Table 7. Relationship of counts per minute between GM counting and LSC counting. (cpm/g fresh weight).

| Plants | Replication | GM counting | | LSC counting | |
|--------|-------------|-------------|-----|--------------|------|
| | | Fresh | Dry | Fresh | Dry |
| Lawn | I | 12.1 | 2.1 | 16095 | 752 |
| | II | 4.6 | 3.1 | 13183 | 1107 |
| | III | 1.9 | 4.4 | 29179 | 782 |
| Clover | I | 13 | 9 | 708 | 1480 |
| | II | - | 3.3 | 770 | 1370 |
| | III | - | 6 | 1846 | 950 |

— : Background level

속 측정된 결과 Table 8에서 보는 바와 같이 계측치가 1/2정도 감소되었다.

1차 측정후 5일후 측정된 결과 700cpm이하의 계측치들은 전부 Background 수준으로 감소되었는데,

Table 8. CPM reduction of NCS treated samples as time elapsed (cpm/g fresh weight) .

| Plants | Replication | Date(days) | | | | | | | |
|--------|-------------|------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | D | | D + 1 | | D + 3 | | D + 5 | |
| | | Dry | Fresh | Dry | Fresh | Dry | Fresh | Dry | Fresh |
| Lawn | I | 6282 | 454 | 2451 | 26 | 1599 | - | 927 | - |
| | II | 5773 | 432 | 4023 | 58 | 2817 | - | 1662 | - |
| | III | 15277 | 321 | 9841 | 21 | 5953 | - | 132 | - |
| Clover | I | 473 | 625 | 76 | 30 | 12 | - | - | - |
| | II | 361 | 580 | 96 | 38 | 36 | - | 1 | - |
| | III | 787 | 412 | 146 | 23 | 34 | - | 2 | - |

- : Background level

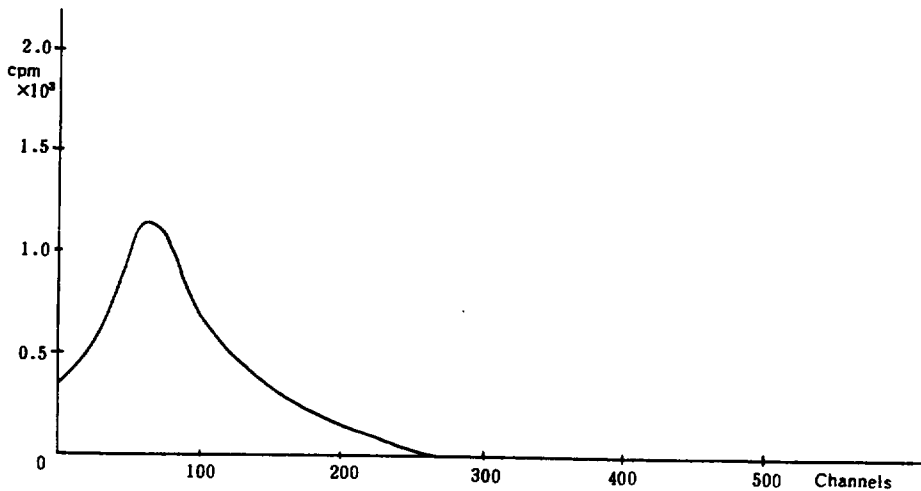


Fig. 1. Energy distribution curve for the plant sample solution treated with NCS in liquid scintillation counting.

이는 NCS와 시료간의 화학적 작용에 의해 발생된 섬광이 시간이 경과함에 따라 약화되기 때문인것 같다.

NCS처리를 하였을 때 추정되는 화학작용에 의해서 생성된 섬광에 대하여 에너지 분포를 측정된 결과 Figure 1에서 보는 바와 같이 H-3보다도 더 낮은 에너지 분포를 갖고 있으므로 높은 에너지를 갖

는 핵종분석에서는 消光현상이 너무 크지 않은 한 NCS 사용에 있어서 문제가 없을 것으로 생각된다.

3. 건식 분해(회화법)

시료를 회화(ashing) 한 후 측정된 결과는 Table 9와 같다. 토경에서 보다는 수경과 사경에서 계측치

Table 9. Counts per minute observed by liquid scintillation counting of the ashed plant samples. (cpm/g fresh weight)

| Plants | Water culture | Sand culture | Pot culture |
|--------------|---------------|--------------|-------------|
| Barley shoot | 20.3 | 19.4 | 5.4 |
| Barley root | 13.0 | 2.1 | 1 |
| Corn shoot | 4 | 3.9 | - |
| Corn root | 8 | 5.5 | 2.4 |

가 높게 나왔는데, 보리가 옥수수보다 더 많은 값을 보였고 지상부와 뿌리에 따른 차이도 있었으나 일정한 경향은 없었다. 이처럼 수경 또는 사경에서 background보다도 높은 계측치를 나타내는 이유를 알기 위해서는 좀더 세밀한 조사가 요구된다.

그러나 전식 분해법은 알코올 추출법이나 NCS처리법에 비해서 안정된 계수율을 가지고 있었다. 그러므로 약한 에너지를 갖는 베타 tracer를 사용했을 경우에는 연소식산화법(combustion oxidizing method)이 시료조제에 적합하다고 할 수 있다.⁴¹

적 요

H-3, C-14, S-35와 같이 낮은 에너지의 베타 선을 방출하는 동위원소를 추적자로 이용하여 방사능을 측정하는 경우 시료 조제 방법에 따라서 消光(color quenching)의 정도가 달라진다. 이에 따른 자

연 방사능 계수율이 불안정하게 됨으로 低放射能計測을 위한 식물체 시료조제 방법을 비교 검토하였다.

1. NCS로 식물체를 처리한 경우에 화학적 형광의 영향으로 자연 방사능 계수율이 높은 것처럼 나타났고 이 현상은 계측시료를 48시간 이상 암소에 방치시키면 부분적으로 제거되지만 특히, 생체시료의 경우에는 10,000cpm 이상의 background를 나타내므로 NCS처리는 좋지 못한 방법이었다.

2. 회화법과 알코올 추출법은 비교적 안정된 background값을 나타내었다.

3. 식물의 생체열을 NCS 처리나 알코올 추출법으로 계측용 시료를 조제하는 경우 色消光이 심하므로 충분히 희석된 시료용액으로 만든 뒤에 측정해야 한다.

4. 토경보다는 수경과 사경에 의해 공시된 식물체에서 background가 높은 경향이었으나 그 이유에 대해서는 더욱 검토해 보아야 한다.

참 고 문 헌

1. 농촌진흥청, 농업기술연구소(1976), 정밀토양도: p.7.
2. Amersham Corporation (1980). NCS Solubilizer for Liquid scintillation counting.
3. IAEA (1964). Technical reports series No. 29; p.153.
4. Kobayashi and Maudsley. Radioactivity in biological material: IV. Liquid scintillation counting: p.107~112.