



微区XRF技术分析无机元素在植物中的原位分布

林梵宇, 尹希杰*, 梁毓娜, 黄杰超

自然资源部第三海洋研究所, 厦门 361005

摘要 植物的无机元素分布特征对植物生理过程具有重要的指标作用, 可揭示营养物质分布、代谢途径及毒理耐受性等多种生命过程。用微区XRF技术测试样品中无机元素的分布, 具有原位无损、可进行较大面积样品连续成像分析以及前处理过程简单等诸多优势。将微区XRF技术应用于植物样品不同器官的无机元素分布检测, 旨在探讨该技术在植物样品测试中的仪器参数选择、样品前处理方法和数据后处理手段等对测试结果的影响。为得到可靠的实验结果, 对不同含水量的器官进行不同的前处理, 并比较不同驻留时间、测试腔体真空与否等仪器条件对测试结果的影响, 同时对数据处理方法进行探索, 包括对获得的数据进行图像叠加及对不同元素浓度比例进行半定量分析。研究表明, 微区XRF技术测试植物样品中无机元素分布具有一定的技术优势。

关键词 植物, 微区XRF, 元素分布, 原位, 无损

林梵宇, 尹希杰, 梁毓娜, 黄杰超 (2020). 微区XRF技术分析无机元素在植物中的原位分布. 植物学报 55, 733–739.

植物样品中无机元素含量及其动态分布特征, 揭示了其生理代谢过程的可能途径。不同元素分布的相关性和差异性, 对植物不同代谢途径的相互作用具有重要的指标意义。此外, 元素微区分布特征还可以指示生态环境系统中毒性元素的来源及传播途径。因此, 植物根、茎和叶样品表面元素微区分布特征研究具有重要意义。然而, 考虑到植物样品通常具有表面积大、含水量高、有机元素含量高及容易变形等特性, 与传统的矿物材料相比, 对植物样品的微区分析存在自身的特点与难点。因此, 评估微区技术在植物样品测试中的应用具有重要的现实意义。

元素微区分析技术目前已广泛应用于矿物分析(梁述廷等, 2013)、表面材料(余锦涛等, 2014)和文物分析(凌雪等, 2018)等诸多方面, 主要方法有微区XRF (micro X-ray fluorescence spectrometry, micro XRF)、X射线荧光显微分析(X-ray fluorescence microanalysis, XFM)、带电粒子诱发X射线荧光分析仪(particle induced X-ray emission, PIXE)、扫描/透射电子显微镜X射线能谱法(scanning electronic microscopy/transmission electron microscope energy

dispersive X-ray spectroscopy, SEM/TEM-EDX)、电子探针分析(electron probe micro-analyzer, EPMA)、同步辐射X射线荧光分析(synchrotron and micro X-ray fluorescence, sXRF)、二次离子质谱仪(secondary ion mass spectrometry, SIMS)以及激光剥蚀电感耦合等离子体质谱法(laser ablation-inductively coupled plasma mass spectrometry, LA-ICP-MS)等(van der Ent et al., 2018)。在这些方法中, 多数对样品表面平整度要求较高, 或可分析的样品面积有限, 或只能分析金属类样品, 或需要较复杂的前处理过程, 因此不完全适用于植物样品。

植物生长发育所必需的营养元素包括大量元素和微量元素。植物营养元素的分析技术最初以定量检测为主, 通过合适酸体系对植物样品进行消解后, 利用电感耦合等离子体质谱技术(余志峰等, 2005)和电感耦合等离子体光谱技术(丁广大等, 2010)对植物样品中的微量及大量元素进行定量检测。随着检测技术的发展, 单纯的定量信息已无法完全满足研究者的需求, 而微区元素分布特征信息检测技术逐渐成为新兴热点领域。研究者通过激光剥蚀联用ICPMS (Wu and

收稿日期: 2020-03-25; 接受日期: 2020-07-21

基金项目: 中国地质调查局国家专项(No.DD20190819)

* 通讯作者。E-mail: yinxijie@tio.org.cn

Becker, 2012)和激光诱导击穿光谱技术(Modlitbová et al., 2020)对植物样品中多种元素的分布进行定量检测,探索了相应的前处理方法,以及检测结果与植物生理活动的相关性。以上两种技术属于破坏性检测,对样品表面造成一定损伤,不利于进一步测试;且检测方法相对复杂,需要针对不同元素分别进行分析。同步辐射X射线荧光光谱等方法检出限较低,在元素分布图像分辨率等方面具有一定的优势,具备无损检测的优点。陈同斌等(2003)采用同步辐射技术研究了砷富集植物中10种元素的微区分布特征,从而推断其吸收和转运特点,以及相关的协同作用。沈亚婷(2014)则利用该技术研究了在铅锌矿区土壤中生长的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)幼苗体内多种元素的分布特点,从而探讨植物在重金属胁迫下的中毒机制。由于同步辐射设备价格昂贵、操作复杂,需在工作站才能开展,导致设备普及程度较低。相比之下,微区XRF技术在针对体积较大的样品面扫及检测效率和简便程度方面具有优势(许涛和罗立强, 2011)。该技术可以在非破坏性条件下原位探测样品的元素组成。

微区XRF技术的原理是利用具有特征波长的X射线与样品表层原子发生反应,激发其内层电子脱离轨道形成光电子,而光电子的能量有高度特征性,通过检测器得到特征响应值可推断样品表面的元素种类并进行半定量分析。该方法早期多应用于矿物研究领域,在植物样品检测方面尚未广泛开展。罗立强等(2017)运用该技术测定了矿物-生物膜间的元素迁移和玉米(*Zea mays*)种子发芽过程中的元素分布,从而探讨植物对毒性元素的耐受机制。Harvey等(2020)结合微区XRF技术及LC-MS等分析手段,研究了硒在整株植物中的分布特征及存在形式,推断出其在植物体中从老叶到新叶的传输路径。鉴于实验室型X射线微区技术具有原位无损检测特点和半定量分析能力,可适用于表面积较大的样品分析,且对样品表面平整度要求不高,前处理过程简单,因此用该方法测定植物样品的元素分布特征具有广泛的应用前景。

本研究重点探讨微区XRF技术在植物样品中的应用,旨在通过优化样品前处理手段和仪器分析条件,将该技术应用于植物不同器官样品,并且探讨在样品扫描完成后数据处理及面扫图像处理方法,为植物无机元素分布研究提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 植物材料

青葙(*Celosia argentea* L.)是苋科青葙属植物,能在重金属污染的土壤环境中生长,并修复受重金属污染的土壤。因此,我们选取青葙作为指标植物进行研究,以检测其吸收重金属后的转运途径和分布特征。

1.2 主要仪器

实验所用仪器为微区X射线荧光分析仪(IXRF Systems公司,型号ATLAS),采用10 μm 光斑的聚束毛细管X射线透镜为激发源。

1.3 实验试剂与标准溶液

消毒用的乙醇及次氯酸钠购自西陇环境科学股份有限公司。1/2 Hoagland营养液:以Hoagland营养液(上海晶纯生化科技股份有限公司)与双蒸水按1:1(v/v)稀释配制。1 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的锰离子储备液:称量0.524 g $\text{MnCl}_2\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (化学纯,西陇环境科学股份有限公司),用少量双蒸水溶解,于100 mL的容量瓶中定容,并转移至清洗干净的蓝色盖瓶中(现配现用)。

1.4 实验方法

1.4.1 植物样品的培养和前处理

取青葙种子用70%乙醇和3.1%次氯酸钠的混合溶剂进行消毒后,用蒸馏水清洗,放入育苗盘在22°C、相对湿度为60%的暗室中进行培养。14天后,将发芽的植物转移至圆形塑料盆中继续培养,培养温度为白天22°C,夜晚18°C,相对湿度为60%,水培溶液为1/2 Hoagland营养液。实验组在1/2 Hoagland营养液中添加锰离子储备液至水培液中锰离子的终浓度为100 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$;而对照组则不添加。每3天更换1次水培溶液,培养30天后收获植物。分别用自来水及蒸馏水清洗植物样品,擦干之后进行后续处理。

对于含水量较高的根茎部分,由于面扫所需时间较长,样品存在脱水变形或位移的风险,因此我们参考王毅等(1994)的实验,优化前处理方法并进行梯度脱水处理。用刀片将新鲜的根和茎切成厚度约为1 cm的截面,立即放入2.5%戊二醛中,在4°C下固定过夜,再将样品从戊二醛中取出,进行50%、70%、90%和100%的乙醇逐级梯度脱水。之后,取出放入超临界

干燥机中干燥1小时。干燥后的根、茎剖面直接用于微区XRF检测。而新鲜叶片含水量适中, 无需脱水处理直接上机分析。

1.4.2 微区XRF面扫及分析步骤

将平整样品固定于样品台上, 调整样品与探头使焦距合适。以X射线最大功率50 keV进行元素成分分布的能谱面扫, 检测器频率(Tc)=1.0 μ s。面扫时, 每点步长根据样品大小和扫描精度确定。叶片样品面积较大, 步长在15–20 μ m之间; 根茎横截面面积较小, 步长约10 μ m。面扫的每点驻留时间默认值设为200 ms, 在确认仪器所需最短点驻留时间时设置10、30、50和200 ms四个梯度, 扫描后的样品进行元素组成的能谱峰图分析。

微区XRF技术最大的干扰是不同元素间的谱线干扰和基底效应。元素间谱线干扰的原因是微区XRF能谱探测器的分辨率还不足以分离能级相近的谱峰。例如, Pb L α 1 (10.55 keV)和As的k β 1 (10.54 keV)之间存在明显的干扰。此外, 由于部分元素能谱峰的叠加效应, 容易在没有特定元素的位置形成基底或合峰干扰。在电脑自动识别元素的基础上, 根据实际峰图情况进行筛选, 从而确定真实可信的元素峰。

1.4.3 数据导出与后处理

打开面扫后保存的sma文件, 另存为txt文件, 并导入Excel软件中, 复制数据并导入Originlab (<https://www.originlab.com/>)制图软件中。在Originlab软件中根据信号强度的数值信息, 以不同颜色或相同颜色的不同深浅程度代表元素信号强度值差异, 制作热图(heatmap)。此外, 通过Excel软件对2种不同元素的半定量含量进行比值计算, 将计算结果导入Originlab软件中进行不同元素含量比例图的绘制。

2 结果与讨论

2.1 微区XRF参数优化

青苳的根和茎含水量较高, 取相邻且直径一致的新鲜茎, 以及梯度脱水后的茎横截面样品进行检测。在仪器环境内放置1天后获得对比结果, 直接检测的新鲜样品失水变形(图1A), 而梯度脱水处理的样品形态及内部特征保持完整(图1B)。此外, 我们还尝试直接

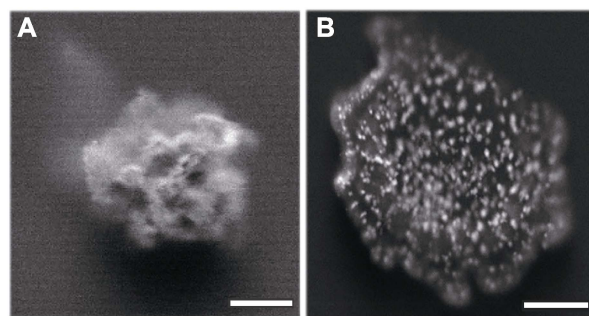


图1 新鲜样品(A)与梯度脱水样品(B)在仪器环境内放置1天后的对比

Bars=1 mm

Figure 1 Comparison of fresh sample (A) and gradient dehydrated sample (B) one day after placed at instrument environment

Bars=1 mm

对样品进行真空干燥, 将样品置于真空干燥箱1小时后取出, 发现处理后的样品非常脆弱, 不易保存和移动。因此, 对于含水量高的样品而言, 梯度脱水的实验方案有利于样品的保存和检测。

微区XRF的优势是由于X射线的穿透力强, 多数情况下可在非真空状态下进行检测。为了比较样品台腔体抽真空和不抽真空是否存在明显差异, 针对同一段植物根部横截面样品区域进行面扫。由于微区XRF不适合检测原子序数太低的元素, 对本实验室设备而言, 可检测元素范围为原子序数在Mg及以后的元素, 因此将我们可检测的元素总量定义为归一化的100%, 而非样品里所有元素总含量(不含碳、氢、氧和氮等元素)。结果(表1)表明, 无论抽真空与否, 主要元素的分布趋势不存在显著差异, 但部分元素(如硅、磷、硫、砷、铬和铅)之间存在较大差异。以上差异较大的元素主要分布于轻原子序数区和重原子序数区。轻原子序数区的元素(如硅、磷和硫)由于其光电电子动能较小, 在非真空的情况下传导至检测器的损失较大, 因此其信号响应值较低, 从而导致误差相对较大; 重原子序数区的元素在仪器50 keV的X射线强度下, 不足以激发其K层谱线, 因此分析的是其L层谱线, 而L层谱线或同样存在能量损失, 或在非真空状态下与其它元素的K层谱线无法很好地分离, 因此造成检测误差。考虑到上述差异, 在抽真空状态下, 实验数据的响应值较高且平行性较好, 尤其对于分析轻、重元素的准确度较高, 因此建议在条件允许时采取抽真空方式进行检测。

表1 不同条件下的微区XRF面扫结果

Table 1 Micro-XRF area scanning results under different conditions

| Dwell time (ms) | Vacuum (%) | | | | Vented (%) | | | |
|-----------------|------------|------|------|------|------------|------|------|------|
| | 200 | 50 | 30 | 10 | 200 | 50 | 30 | 10 |
| Mg | 4.6 | 4.6 | 4.6 | 4.7 | 4.7 | 5.2 | 5.1 | 4.7 |
| Al | 2.3 | 2.4 | 2.3 | 2.3 | 3.6 | 3.1 | 3.6 | 3.9 |
| Si | 1.4 | 1.3 | 1.4 | 1.5 | 0.6 | 0.5 | 0.6 | 0.6 |
| P | 0.7 | 0.7 | 0.8 | 0.8 | 0.2 | 0.2 | 0.2 | 0.3 |
| S | 2.1 | 2.1 | 2.2 | 2.2 | 0.6 | 0.6 | 0.6 | 0.6 |
| K | 13.7 | 13.6 | 13.7 | 13.7 | 12.8 | 12.6 | 12.8 | 12.4 |
| Ca | 38.2 | 38.9 | 39.3 | 39.4 | 36.5 | 36.5 | 37.2 | 36.2 |
| Cr | 3.6 | 3.6 | 3.6 | 3.5 | 3.6 | 3.4 | 3.6 | 3.8 |
| Mn | 3.4 | 3.4 | 3.4 | 3.3 | 3.4 | 3.5 | 3.3 | 3.6 |
| Fe | 11.8 | 11.6 | 11.2 | 11.5 | 14.4 | 14.6 | 13.6 | 13.4 |
| Ni | 1.6 | 1.6 | 1.5 | 1.5 | 2.2 | 2.1 | 2.2 | 2.5 |
| Cu | 2.0 | 2.0 | 1.9 | 1.9 | 2.8 | 2.6 | 2.8 | 2.9 |
| Zn | 1.6 | 1.6 | 1.5 | 1.5 | 2.1 | 2.1 | 2.0 | 2.4 |
| As | 0.5 | 0.4 | 0.4 | 0.4 | 0.8 | 0.5 | 0.6 | 0.7 |
| Cd | 9.1 | 9.0 | 9.0 | 8.7 | 6.8 | 7.2 | 6.6 | 7.0 |
| Pb | 3.3 | 3.3 | 3.1 | 3.1 | 5.1 | 5.3 | 5.2 | 5.0 |

表中数据为该元素占样品中能谱检测范围内可测元素总量(Na11-U92)的半定量百分比。

The data represent the semi-quantitative percentage of the total detectable elements (Na11-U92) in the sample within the detection range of energy spectrum.

面扫时每个点的驻留时间也是检测过程中可调整的参数之一。驻留时间越短,扫描总时长越短,效率越高,且可以减少扫描时间过长带来的环境干扰。而驻留时间越长,越有利于低强度的能谱峰被检测到,有助于信号强度的提升,从而减小误差。为了确定适合植物样品的单点驻留时间,我们尝试了4个不同的时间梯度,即10、30、50和200 ms,针对同一根横截面样品的同一区域进行了面扫分析(表1)。真空面扫条件下的半定量数据比对显示,4组数据在该样品中的元素含量无显著差异。然而在实际的能谱峰图分析中,10 ms的部分低含量元素能谱峰未能很好地与背景分离,在选取所含元素时存在一定困难。30 ms虽能与背景基本分离,但考虑到不同样品的差异性,我们建议选择50 ms作为兼顾效率和检测准确度的最优方案。

综上所述,对含水量高的样品需要进行脱水前处理,梯度脱水的实验方案便于检测和样品保存。抽真空、面扫单点驻留时间为50 ms是较优化的仪器参数条件。

2.2 茎部横截面面扫结果

我们对植物茎横截面样品进行了面扫,并将结果从软

件导出(图2A),图2中不同颜色代表不同元素种类,颜色越深则表示相应元素含量越高。不同元素的分布特征呈现显著差异。钾、硫元素主要分布在茎的周边及圆柱状维管束结构中(图2C, E);钙、磷元素在横截面中呈分散的点状分布(图2B, D);而锰元素则主要分布在表皮部分及中心髓的部分(图2F)。对钾、钙和锰3种元素进行图像叠加,发现钙元素附着于主要成分是钾元素的纤维束结构边际,而锰元素则与钙元素在中心髓部分交织分布(图2G)。综上所述,该方法对于研究钾、钙、磷、硫和锰等必需元素不同分布特征具有实用性,为后续分析推导植物体内的代谢途径提供帮助。即使对于茎横截面这类含水量较高的样品,经过梯度脱水等适当简单的前处理,也可以得到良好的分析结果。

2.3 叶片面扫结果

为探讨叶片样品中锰元素的分布特征,我们对叶片样品进行了面扫分析,通过软件自带算法对每个扫描点进行归一化半定量处理,并将数据导出至Originlab软件进行图像处理,获得在生长过程中不添加锰离子储备液的阴性对照组(图3A-C)和添加锰离子储备液的实验组(图3D-F)锰元素分布图。由热图(图3G)及其

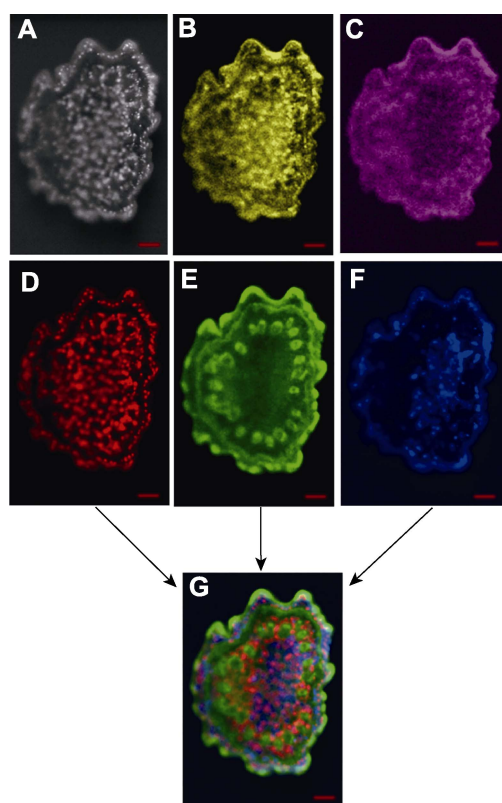


图2 茎横截面中不同元素的分布特征
(A) 茎横截面; (B) 磷; (C) 硫; (D) 钙; (E) 钾; (F) 锰; (G) 钙、钾、锰叠加。Bars=500 μm

Figure 2 Distribution characteristics of different elements in stem cross section

(A) Stem cross section; (B) P; (C) S; (D) Ca; (E) K; (F) Mn; (G) Ca, K, Mn overlay. Bars=500 μm

线性分析可知, 添加的锰元素传输到叶片后, 主要分布于叶片样品的边缘, 在叶片中间及叶脉中含量较低。选取同样的热图标尺范围比较对照组和实验组, 结果显示, 添加锰元素的实验组叶片中锰元素含量比对照组有数量级的升高(图3B, E)。由于钙和钾等元素是植物叶片生长的必需元素, 含量较为稳定, 为证明实验组锰浓度提高的同时, 其它生长必需元素的含量与对照组相比并无显著升高, 对实验组及对照组的钙/锰比值进行了数据运算及可视化处理, 经对比显示, 在同样标尺的情况下, 对照组钙/锰比值远高于实验组(图3C, F)。

此外, 由锰、钾含量散点图可知, 实验组与对照组的钾元素含量类似, 而锰元素含量存在显著差异(图4A, B)。对照组与实验组钙/锰比值和锰、钾含量

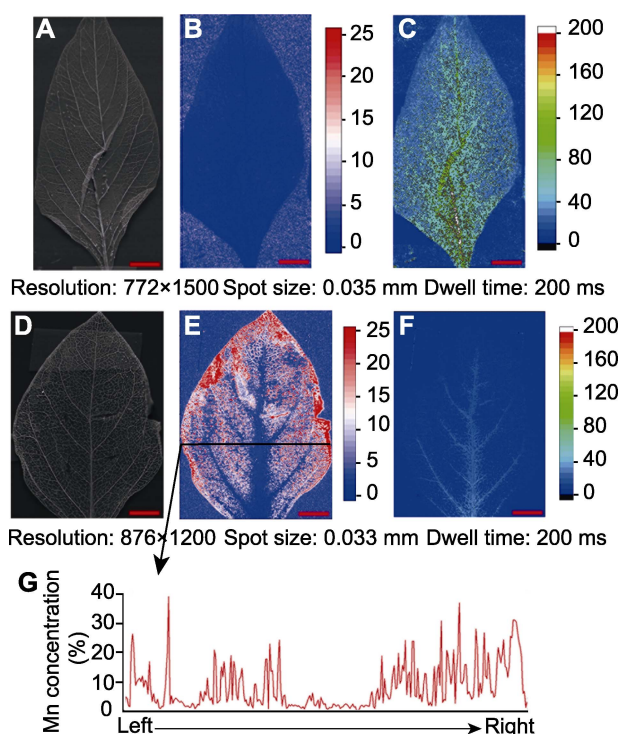


图3 叶片样品中锰元素的分布
(A)–(C) 对照组 ((A) 叶片样品; (B) 锰元素浓度分布热图; (C) 钙锰比值分布色图); (D)–(G) 实验组 ((D) 叶片样品; (E) 锰元素浓度分布热图; (F) 钙锰比值分布色图; (G) 锰元素线性分布情况)。Bars=5 mm

Figure 3 Distribution characteristics of Mn in leaf
(A)–(C) Control group ((A) Leaf; (B) Mn concentration heatmap; (C) Ca/Mn colormap); (D)–(G) Experimental group ((D) Leaf; (E) Mn concentration heatmap; (F) Ca/Mn colormap; (G) Linear distribution of Mn). Bars=5 mm

散点图分析结果证实了实验组植物对培养液中的锰元素有很好的吸收作用, 并可将其传输至叶片使其其中的锰元素含量显著升高, 而植物的生长必需元素(如钾和钙)并无明显变化。综上所述, 该方法对于叶片样品中特定元素的分布特征及相互比较具有良好的指示作用, 经过半定量归一化计算后, 可获得特定元素含量的相对比较信息。

2.4 讨论

微区XRF技术作为表面元素分布特征检测技术的新热点, 有必要开发其在植物领域的应用方案。本研究通过微区XRF技术, 从样品培养收集到上机前处理、仪器参数优化、数据处理及导出至外部软件制图, 为广大研究者提供可参考的全流程实验方案。通过比较

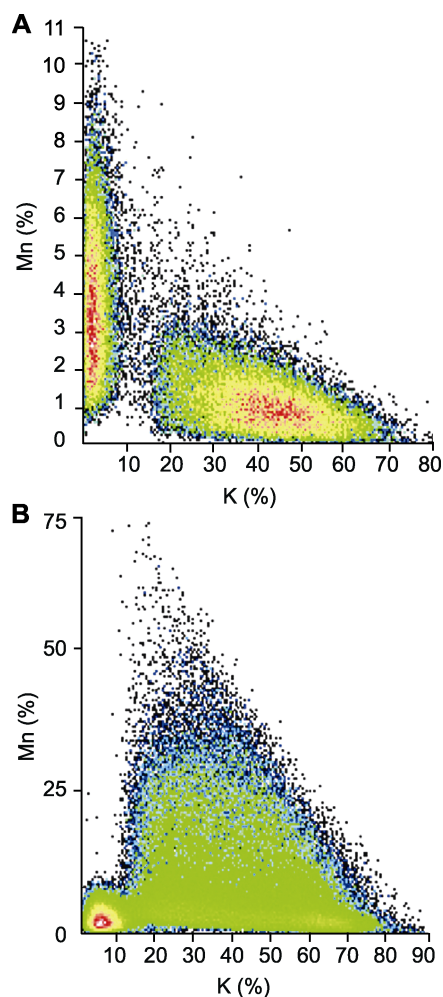


图4 叶片样品中锰和钾元素的含量
(A) 对照组; (B) 实验组

Figure 4 Content characteristics of Mn and K in leaves
(A) Control group; (B) Experimental group

腔体抽真空与否、面扫时单点驻留时间长短以及样品是否进行脱水前处理等诸多因素对结果差异的影响,确定了在对样品进行梯度脱水处理、抽真空的情况下,以最短单点驻留时间50 ms为较优的实验方案。在此基础上,我们对植物不同器官样品进行了面扫,并对获得的数据进行了分析和制图。通过对茎横截面的面扫,获得了植物样品表面元素差异性的分布结果。通过对叶片样品的面扫,比较了对照组与实验组的必需元素与非必需元素含量的半定量数据。此外,我们还探讨了该技术在后续数据处理及出图等方面的技巧,实现了从样品前处理到结果出图的全流程解决方案。

XRF作为检测植物无机元素分布的有效工具,检

测范围依然存在一定的局限性。由于XRF原理是利用X射线轰击样品的表面产生元素特异性的光电子,因此对于原子序数小的元素(如碳、氢、氧和氮),由于其光电子动能小,易在到达检测器前能量衰竭,信号响应值无法被检测器捕捉到;原子序数大的元素,50 keV的激发源无法到达其K层谱线,而L层谱线同样存在信号响应值低的问题,只有在含量相对较高时才能被检测器捕捉到相应信号。本实验室设备可检测的元素范围是原子序数在Mg及Mg以后的所有元素,具体检出限视不同种类的元素含量及样品基质性质而异。此外,能谱技术是一种半定量检测技术,无法实现元素含量的精准定量。因此,作为对微区XRF技术的补充,我们可以采取其它技术手段共同检测。例如,对于无需无损检测的样品,可通过激光剥蚀-ICPMS联用技术,获得比微区XRF技术更低的检出限。如果无需研究元素的分布情况,只检测元素的含量,可结合元素分析仪获得有机元素的含量,用ICPMS和电感耦合等离子体光谱仪(inductively coupled plasma-optical emission spectroscopy, ICPOES)检测无机元素的含量。然而,在无损检测、无需复杂前处理、对较大微区面积进行样品分析、一次性解析大部分元素的分布及半定量信息等方面,微区XRF技术依然具有不可替代的优势,是分析植物样品元素分布及半定量信息的快速有效方法。

参考文献

- 陈同斌, 黄泽春, 黄宇营, 谢华, 廖晓勇 (2003). 神超富集植物中元素的微区分布及其与神富集的关系. 科学通报 48, 1163–1168.
- 丁广大, 刘佳, 石磊, 徐芳森 (2010). 植物离子组学: 植物营养研究的新方向. 植物营养与肥料学报 16, 479–484.
- 梁述廷, 刘玉纯, 刘琪, 林庆文 (2013). X射线荧光光谱微区分析在铅锌矿石鉴定上的应用. 岩矿测试 32, 897–902.
- 凌雪, 吴萌蕾, 廖原, 周羿辰 (2018). 文物研究与保护中的无损分析技术. 光谱学与光谱分析 38, 2026–2031.
- 罗立强, 沈亚婷, 马艳红, 许涛, 储彬彬, 曾远, 柳检 (2017). 微区X射线荧光光谱仪研制及元素生物地球化学动态分布过程研究. 光谱学与光谱分析 37, 1003–1008.
- 沈亚婷 (2014). 原位微区同步辐射X射线荧光和近边吸收谱研究拟南芥幼苗及根际土壤中铅分布与形态特征. 光谱学与光谱分析 34, 818–822.

- 王毅, 徐欣, 刘立新 (1994). 生物样品X射线微区分析样品制备技术分析. 植物学通报 **11**(专辑), 85, 88.
- 许涛, 罗立强 (2011). 原位微区X射线荧光光谱分析装置与技术研究进展. 岩矿测试 **30**, 375–383.
- 余锦涛, 郭占成, 冯婷, 支歆 (2014). X射线光电子能谱在材料表面研究中的应用. 表面技术 **43**(11), 119–124.
- 余志峰, 高永宏, 毛振才 (2005). 植物样品中多种微量元素的分析方法及应用研究. 见: 甘肃省化学会第二十四届年会论文集. 兰州: 甘肃省化学会. pp. 306–308.
- Harvey MA, Erskine PD, Harris HH, Brown GK, Pilon-Smits EAH, Casey LW, Echevarria G, van der Ent A (2020). Distribution and chemical form of selenium in *Neptunia amplexicaulis* from Central Queensland, Australia. *Metallomics* **12**, 514–527.
- Modlitbová P, Pořízka P, Kaiser J (2020). Laser-induced breakdown spectroscopy as a promising tool in the elemental bioimaging of plant tissues. *TrAC Trends Anal Chem* **122**, 115729.
- van der Ent A, Przybyłowicz WJ, de Jonge MD, Harris HH, Ryan CG, Tylko G, Paterson DJ, Barnabas AD, Kopittke PM, Mesjasz-Przybyłowicz J (2018). X-ray elemental mapping techniques for elucidating the eco-physiology of hyperaccumulator plants. *New Phytol* **218**, 432–452.
- Wu B, Becker JS (2012). Imaging techniques for elements and element species in plant science. *Metallomics* **4**, 403–416.

Analysis of *In Situ* Distribution of Inorganic Elements in Plants by Micro-XRF

Fanyu Lin, XijieYin*, Yuna Liang, Jiechao Huang

Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Xiamen 361005, China

Abstract The distribution characteristics of inorganic elements in plants play an important guiding role in the physiological, studies, which can reveal the distribution of nutrients, metabolic process, toxicity tolerance and other aspects in plants. Micro-XRF technology has many advantages to study inorganic elements, such as *in situ*, non-destructive, large area sample continuous mapping analysis, and simple pretreatment process. This study aims to explore the instrument parameters, pre-processing methods and data post-processing methods of micro-XRF in the distribution of inorganic elements of different plant organ samples. According to the difference of water content of different organs, we carried out different pretreatment schemes to obtain reliable experimental results. The influence of different point dwell time, chamber vacuum and other experimental conditions were compared. A variety of processing methods, such as image overlay, semi-quantitative analysis of concentration ratio of different elements, were carried out. The results show that micro-XRF technique has certain advantages in the determination of the distribution of inorganic elements in plant samples.

Key words plant, micro-XRF, element distribution, *in situ*, nondestructive

Lin FY, Yin XJ, Liang YN, Huang JC (2020). Analysis of *in situ* distribution of inorganic elements in plants by micro-XRF. *Chin Bull Bot* **55**, 733–739.

* Author for correspondence. E-mail: yinxijie@tio.org.cn

(责任编辑: 白羽红)