

# $^3\text{H}$ , $^{14}\text{C}$ 标记植物样本液闪测量燃烧制样

高金芳 冯春生 杜志忠

(吉林省农业科学院原子能研究所)

植物材料在液闪测量制样时,由于有大量纤维素,一般组织增溶剂不易溶解。采用悬浮液测量,不同组织的比重和颜色不同,难于获得淬灭一致的稳定悬浮液。因此,最好是通过干烧法或湿氧化法,将各种有机物质氧化成 $\text{CO}_2$ 和 $\text{H}_2\text{O}$ ,掺入闪烁液中进行均相测量。

几年来,我们在科研中,采用氧瓶燃烧技术,1:6乙醇胺甲醇溶液吸收 $^{14}\text{CO}_2$ ,BZOB闪烁液吸收 $^3\text{H}_2\text{O}$ ,用样品道比法进行淬灭校正测量。取得 $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$ 回收效率均为98%以上的满意结果,并具有较好的精确度和可靠性。

## 一、氧燃烧技术

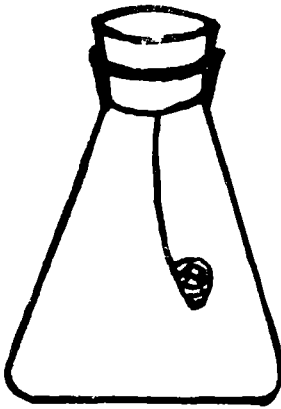
### 1. 材料及试剂

(1) 100ml三角烧瓶及软质胶塞; (2)  $\phi 0.8\text{mm}$ 牙用不锈钢丝; (3) 引火装置: 高频火花真空测定仪; (4) 氧气瓶; (5) 吸收剂:  $^{14}\text{CO}_2$ 吸收剂: 1:6乙醇胺甲醇溶液;  $^3\text{H}_2\text{O}$ 吸收剂: 乙二醇乙醚, BZOB闪烁液, Conway 闪烁液, Kinard 闪烁液, TppE闪烁液, Tpp<sub>4</sub>闪烁液; (6) 放射性标准溶液:  $^{14}\text{C}$ —正十六烷,  $^3\text{H}$ —正十六烷; (7) 医用注射器, 微量注射器, 移液管等。

### 2. 装置

氧燃烧瓶根据样本材料, 点火和吸收剂加入方式不同, 已有多种形式。在我们试验中, 氧燃烧瓶用三角烧瓶代用, 如图所示。

它是由三角烧瓶, 白橡胶塞和用 $\phi 0.8\text{mm}$ 牙用不锈钢丝制作的样品篮构成。样品篮是上口约为1cm的漏斗状小篮, 钢丝的另一端插入瓶塞下面。为使加入吸收剂的针头容易穿透橡胶塞, 胶塞的厚度要切去一部分。三角烧瓶的大小应根据样品的重量和燃烧所需氧气量来确定。我们制备10mg样本选用100ml三角烧瓶。



氧燃烧瓶装置

### 3. 操作

把干的样本用擦镜纸包好, 装入不锈钢丝绕制的样品篮内, 样品篮的另一端插入白胶塞的下端。打开氧气瓶阀门, 经细管向烧瓶充入氧气, 把瓶内空气排净。然后把带有白胶塞的样品篮插入瓶内, 拧紧胶塞。在屏蔽后用高频火花对准样品点火燃烧。样本燃烬后, 迅速用带8\*或9\*针头的医

用注射器穿透胶塞注入吸收剂。用手压住胶塞和注射器推柄，拔出针头，摇动燃烧瓶，吸收剂遇热挥发成雾状有机气体。室温下放置吸收两小时，在通风厨内打开瓶塞，用移液管定量吸取吸收剂样品，加入液闪测量瓶中，再加入闪烁液，混均加盖，装入液闪中暗适应，待测。

高频火花点火要注意几点：首先，包装样品的擦镜纸边角要搭在样品篮的外边，点火时，要使火花穿透擦镜纸后到达金属；其次，样品篮距瓶壁的距离在0.5—1.0cm之间为宜，这样点火快，一次打火就可点燃；第三，包装样品的纸要小，因为纸燃烧耗氧过多会影响样品的完全燃烧和回收效率。

## 二、 $^{14}\text{C}$ 和 $^3\text{H}_2\text{O}$ 的吸收

### 1. 对 $^{14}\text{C}$ 的回收试验

用微量注射器取 $^{14}\text{C}$ —正十六烷标准溶液10 $\mu\text{l}$ 注入用擦镜纸包好的1 $\text{cm}^2$ 干燥豆叶内，在100ml氧燃烧瓶中点火燃烧，然后注入5ml 1:6配比的乙醇胺甲醇溶液，吸收2小时，取2ml做样品，加入到液闪测量瓶中，再加入10ml BZOB闪烁液，用FJ353液闪计数器进行样品道比法测量。 $^{14}\text{C}$ 的回收率达到98%以上。我们用同样方法取

#### 1:6乙醇胺甲醇溶液对

表1  $^{14}\text{C}$ 的回收率

| 制样与测量方法                          | $^{14}\text{C}$ —正十六烷 | dpm      | $^{14}\text{C}$ 回收率 E% | $\bar{E} \pm \sigma_{\bar{E}} \%$ |
|----------------------------------|-----------------------|----------|------------------------|-----------------------------------|
| 样品道比法测量<br>燃烧瓶100ml.<br>吸收剂5ml.  | 10 微升                 | 16118    | 98.6                   | 98.2 $\pm$ 0.5                    |
|                                  | 16080 dpm             | 15980    | 97.7                   |                                   |
| 内标准法测量.<br>燃烧瓶250ml.<br>吸收剂10ml. | 20微升                  | 31552    | 98.1                   | 98.8 $\pm$ 0.3                    |
|                                  |                       | 31756    | 98.7                   |                                   |
|                                  |                       | 31991    | 99.5                   |                                   |
|                                  |                       | 32160dpm | 31781                  |                                   |

20 $\mu\text{l}$  $^{14}\text{C}$ —正十六烷标准溶液，在250ml烧瓶中燃烧，加入10ml吸收剂，用内标准法测量， $^{14}\text{C}$ 的回收效率同样达到98%以上。见表1。

### 2. 对 $^3\text{H}_2\text{O}$ 的回收试验

用同样方法，取 $^3\text{H}$ —正十六烷10微升，用250ml的烧瓶燃烧，用10ml吸收剂吸收。除用乙二醇乙醚做吸收剂的，取3ml，加10ml Tpp<sub>4</sub>闪烁液测量外，其余以闪烁液作吸收剂的均应9ml加入测量瓶中测量。结果表明BZOB闪烁液对氘水的回收率高达98—100%。

表2

#### 几种 $^3\text{H}_2\text{O}$ 吸收剂的回收率

| 吸收剂                           | 试验次数 | $^3\text{H}_2\text{O}$ 平均回收率 $\bar{E} \pm \sigma_{\bar{E}} \%$ | 总平均回收率 %        | 吸收剂组份   |
|-------------------------------|------|--|-----------------|---|
| XNbG闪烁液<br>(BZOB)<br>10ml     | 1    | 101.6 $\pm$ 4.2  | 100.1 $\pm$ 3.9 | 二—联苯基—苯骈呋啉(BZOB)<br>6g, 萘60g, 乙二醇乙醚300ml,<br>二甲苯700ml.    |
|                               | 2    | 101.8 $\pm$ 6.2  |                 |   |
|                               | 3    | 98.7 $\pm$ 1.0   |                 |   |
|                               | 4    | 98.4 $\pm$ 1.9   |                 |   |
| 乙二醇乙醚<br>10 ml                | 1    | 97.9 $\pm$ 1.5   | 98.1 $\pm$ 2.7  | 乙二醇乙醚<br>(用Tpp <sub>4</sub> 闪烁液测)                         |
|                               | 2    | 98.5 $\pm$ 2.4   |                 |   |
|                               | 3    | 97.9 $\pm$ 3.7   |                 |   |
| DNXbnE闪烁液<br>(Kinard)<br>10ml | 1    | 91.0 $\pm$ 2.1   | 91.3 $\pm$ 2.6  | 二氧六环1000ml, 萘60g, 乙二醇乙醚20ml, 甲醇100ml, ppo 4g, popop 0.2g. |
|                               | 2    | 91.8 $\pm$ 3.9   |                 |   |
|                               | 3    | 91.1 $\pm$ 0.8   |                 |   |

续表2

| 吸 收 剂                       | 试验次数 | $3\text{H}_2\text{O}$ 平均回收率<br>$E \pm \sigma_E$ % | 总平均回收<br>率 % | 吸 收 剂 组 份                                 |
|-----------------------------|------|---|--------------|---|
| MppG闪烁液<br>(ConWay)<br>10ml | 1    | 93.4±3.5  | 94.9±3.7     | 甲苯800ml, 乙二醇乙醚200ml,<br>ppo6g, popop0.2g. |
|                             | 2    | 96.7±2.6  |              |   |
|                             | 3    | 95.4±5.7  |              |   |
|                             | 4    | 94.1±1.8  |              |   |
| TppE闪烁液<br>10ml             | 1    | 88.9±5.7  | 89.4±4.6     | 甲苯1000ml, 无水乙醇500ml,<br>ppo7g, popop0.6g. |
|                             | 2    | 89.8±3.2  |              |   |

### 三、在光合速率测定中所拟定的液闪制样及测量程序

在光合作用研究中，我们采用氧瓶燃烧技术进行 $^{14}\text{CO}_2$ 同化量的测定。首先，把 $^{14}\text{CO}_2$ 光合标记的面积为 $1\text{cm}^2$ 的植物叶片用热烫法固定，夹在书本中，烘箱 $70^\circ\text{C}$ 干燥。然后，用擦镜纸包好干燥的叶片装入样品篮内，把样品篮的另一端插入胶塞的下端。向100ml三角烧瓶充氧2分钟后，再插入带样品篮的胶塞拧紧。高频火花对准样品打火燃烧。样品燃烬后，立即用注射器穿透胶塞向瓶内注入5ml的1:6乙醇胺甲醇溶液。摇动烧瓶，使吸收剂挥发成有机气体，室温放置吸收2小时。取吸收剂2ml放入测量瓶中，再加入BZOB闪烁液10ml，混均，放入液体闪烁计数器中，进行样品道比法测量。

求取道比值  $R = \frac{\text{cpm}_B}{\text{cpm}_A}$ ，再从样品道比曲线中查出R对应测量效率E值。则样品放射性

$$\text{强度 dpm} = \frac{\text{cpm}_A}{0.98 \times E} \times \frac{2}{5}$$

式中0.98为吸收剂对 $^{14}\text{CO}_2$ 的回收效率， $2/5$ 为吸收剂的用量与测量取样量的比值。

$^{14}\text{C}$ 样品道比曲线的绘制。首先用氧瓶燃烧法制备含有对照样品氧化物的1:6配比的乙醇胺甲醇溶液20ml，备用。排选8个透明度和厚度一致的测量瓶，每瓶加入2ml经过燃烧制备的乙醇胺甲醇溶液，再用微量注射器向各瓶加入10微升 $^{14}\text{C}$ -正十六烷标准溶液，和10mlBZOB闪烁液。然后用带5号针头的注射器分别向每瓶中加入0, 5, 10, 15, 20, 30, 50, 80滴四氯化碳溶液，混均，装入液闪计数器中，暗适应，待测。

根据选定的FJ353液闪计数器测 $^{14}\text{C}$ 的工作条件，高压1310V，衰减A为 $32 \times 1$ ，B为 $1 \times 1$ ，分析选择4档，阈值3V，A道宽为3.0—8.5V，B道上限值为8.5V，则通过选定不同的B道下限值来测量各瓶的 $^{14}\text{C}$ 道比值。假如选B道下限值为5.4V，则在A道宽为3.0—8.5V，B道宽为5.4—8.5V的条件下，测出各瓶的A道和B道的CPm值，分别求出各

瓶的道比值  $R = \frac{\text{CPm}_B}{\text{CPm}_A}$ ，再根据加入瓶中放射性强度dpm值，求出各瓶的A道测量效率

$E = \frac{\text{CPm}_A}{\text{dpm}}$ ，然后R对E作图。如果成一直线，则B道下限值就可确定。否则，要从新选

定 B 道下限值进行测量、作图。直到作图成一直线，B 道下限值确定为止。

#### 四、应用实例

氧燃烧技术具有较好的测量精确度和可靠性。几年来，我们把它应用在大豆、玉米、

表 3 氧瓶燃烧法制备  $^{14}\text{C}$  粉碎样品测量

| 试验次数 | 样品量<br>mg | dpm/mg豆叶 | $\bar{A} \pm \delta_A$  |
|------|-----------|----------|-------------------------|
| 1    | 6.0       | 11827    | $12098 \pm 231$<br>(2%) |
|      | 6.0       | 12109    |                         |
|      | 6.0       | 12064    |                         |
|      | 6.0       | 12390    |                         |
| 2    | 5.5       | 12312    | $12135 \pm 879$<br>(7%) |
|      | 6.5       | 11023    |                         |
|      | 5.1       | 12499    |                         |

人参、葡萄等光合作用研究中，积累了一些资料。

表 3 是把烘干粉碎的  $^{14}\text{C}$  标记豆叶样本经两次氧瓶燃烧制样所测结果，其重复性较好，说明了方法的精确度较高。

表 4 是在大豆光合速率研究中，在同一小叶，中脉左右对称部位进行  $1\text{Cm}^2$  的  $^{14}\text{CO}_2$  光合标记样本，氧瓶燃烧制样测量结果。

在同一叶片存在着微小差异，但足以说明品种间，甚至植株间光合速率的不同。

表 4

#### 大豆叶片光合速率测量

| 品 种                   | 植 株 号 | dpm    | $\text{mgCO}_2/\text{d}_n^2 \cdot \text{h}$ | $\bar{A} \pm \sigma_{\bar{A}}$ |
|-----------------------|-------|--------|---|--------------------------------|
| 开<br>育<br>八<br>号      | 1     | 674649 | 27.5  | $31.1 \pm 1.8$                 |
|                       |       | 732089 | 29.8  |                                |
|                       | 2     | 673539 | 27.5  |                                |
|                       |       | 788492 | 32.1  |                                |
|                       | 3     | 926016 | 37.7  |                                |
|                       |       | 928608 | 37.8  |                                |
|                       | 4     | 636048 | 25.9  |                                |
|                       |       | 733081 | 29.9  |                                |
|                       | 5     | 791250 | 36.1  |                                |
|                       |       | 754998 | 39.6  |                                |
| 小<br>金<br>黄<br>一<br>号 | 1     | 886894 | 36.1  | $35.3 \pm 2.0$                 |
|                       |       | 971775 | 39.6  |                                |
|                       | 2     | 936975 | 38.2  |                                |
|                       |       | 921527 | 37.6  |                                |
|                       | 3     | 936587 | 38.2  |                                |
|                       |       | 932366 | 38.0  |                                |
|                       | 4     | 685705 | 27.9  |                                |
|                       |       | 657231 | 26.8  |                                |
|                       | 5     | 840520 | 34.3  |                                |
|                       |       | 901322 | 36.7  |                                |