

液体闪烁测量用的计数瓶

中国科学院生物物理研究所四室六组

液体闪烁测量方法在医药卫生、生物科学、农业、环境保护、考古、水文、气象、海洋学等战线已经或将要有广泛的应用。液体闪烁测量用的标记化合物、仪器和闪烁液等在国内都已有生产。在实际测量工作中,盛放闪烁液和样品的计数瓶,虽然似乎是很次要的用品,而且有关液体闪烁测量的资料中,也很少谈到有关计数瓶的问题,但它对测量的准确度和重复性却是一个很重要的影响因素。

计数瓶有各种类型,最普遍应用的是标准容积(20毫升)的玻璃、聚乙烯和尼龙瓶(图1)。本文对它们的本底、效率、优值,以及渗透性、外标准比、内壁吸附、耐久性和对溶剂的惰性进行了比较。并介绍了几种新的小型计数瓶。对淬灭校正的外标准比、体积相依性、静电和几何条件等方面会出现的问题提请注意。并谈到了几

种瓶盖的优缺点。此外还用一些具体例子来说明由于选择瓶子的粗心而引起的误差。

关于瓶子的形状和尺寸

早期瓶的容积大的是60—85毫升,以便容纳足够量的闪烁液来测量含水样品。不久就发现,要把光电倍增管靠近瓶以提高计数效率,于是普遍采用20毫升作为瓶的标准容积。因为瓶子变小了,那么由于玻璃中天然放射性所引起的本底也降低了。

国际电工委员会推荐了标准的计数瓶,其尺寸如图2及表1。但至今这种标准没有被承认。值得注意的是,如果使用的计数瓶尺寸不合适,往往会使仪器出毛病。

玻璃计数瓶

常用的玻璃计数瓶有两种类型:硼硅酸盐玻璃瓶,普通碱石灰玻璃或火石玻璃瓶。两种

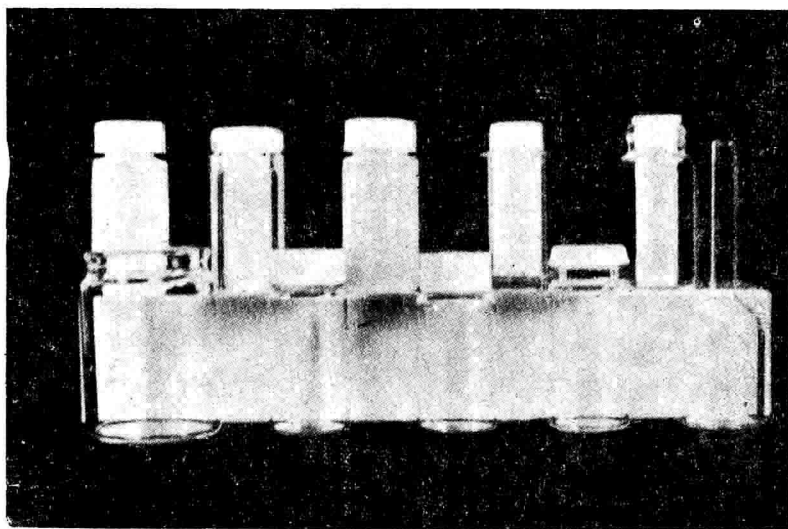


图1 液体闪烁计数瓶

顶上一排从左到右: (a) 聚乙烯瓶 (b) 10 毫升玻璃瓶嵌入聚乙烯支架 (c) 尼龙瓶 (d) 小型瓶 (Minivial™) (e) 聚乙烯瓶嵌入玻璃支架
底下的一排从左到右: (f) 60 毫升玻璃瓶 (g) 硼硅酸盐玻璃瓶 (h) 普通用途玻璃瓶 (i) 石英瓶 (j) 火焰封口硼硅酸盐玻璃瓶

之间的主要差别在于前者价格较高而本底计数率较低，氚本底在 18—22 计数/分之间。普通玻璃瓶，氚本底通常是 40—50 计数/分。不同工厂生产的玻璃瓶的本底计数率是有明显差别的，而且一批产品与另一批之间也有差别。瓶子的质量和壁厚度不同，在测量结果的重复性

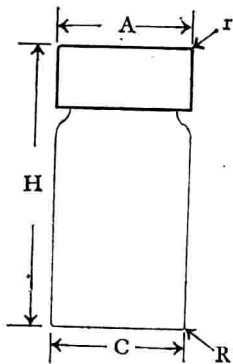


图 2 液体闪烁计数瓶的标准尺寸
(国际电工委员会推荐)

表 1 标准计数瓶尺寸*

	尺 寸 值	
	最 小 (毫米)	最 大 (毫米)
A	25.0	(1)
C	26.0	30
H	58.0	63.0
r	0.4	3.6
R		1.5

(1) 表示最大值不超过瓶直径 C;

* 国际电工委员会推荐

方面会引起严重的问题。特别是当采用外标准比方法进行淬灭校正时更是如此。我们曾用北综 5 号料制成低钾玻璃计数瓶，来比较不同厚度的瓶壁对测量结果的影响。当壁厚由 1 毫米变为 1.3 毫米时，氚探测效率可由 40.3% 降至 38.1%。Paix 指出，将捣碎了的玻璃瓶放入低水平 γ 谱仪，可以验证各种来源的玻璃之间的主要差别是由于天然 ^{226}Ra 及其衰变产物所引起的。在玻璃瓶本底中 ^{40}K 的贡献是较次要的。

玻璃计数瓶的优点有：对强酸或强碱性溶剂，诸如 NCS 和 Hyamine 氢氧化物不起化学

作用；不会渗透和变形；对光致发光灵敏度低；适用于自动淬灭校正的外标准比方法；能够用眼直接观察样品等。

使用玻璃瓶有三个缺点：第一是易破损。第二是价格略高，然而均衡玻璃的价钱和其他类型瓶子的缺点，在那些需要准确度和重复性好的、要求严格的测量中，还是选用玻璃瓶。第三个缺点是较严重的，即玻璃瓶的壁吸附。它常常使计数率随时间明显下降。

除了吸附以外，化学发光、相分离和沉淀也能引起计数率随时间下降。现在谈一谈判断计数率下降原因的几种方法。

比较单管计数与符合计数可以鉴别化学发光。

将样品分别置于玻璃瓶与尼龙瓶或聚乙烯瓶中进行比较。可以区别吸附样品与沉淀样品，后两种瓶没有极化表面。另一个方法是使劲摇动或旋转瓶子，看是否因为样品再溶解而使计数率增加。必须强调，标记样品的量通常是很小的，不能凭肉眼观察来判断是否发生沉淀。

再一个检验吸附的简单方法是把闪烁液从初始瓶子倒到第二个瓶子里，用本底的闪烁液装满初始的瓶子，重新计数。若发生吸附，则将保留初始计数的一个相当的百分比。

相分离对于较新的洗涤剂闪烁液可能是一个严重的问题，特别是当样品在室温下制备，而计数却在冷却系统中进行的时候更是如此，因为相与温度有很大的关系。用玻璃瓶能够“看见”样品，可以判断样品是否均匀。

淬灭校正的双比率方法可作为检验沉淀、相分离和吸附或任何非均相样品的筛选方法。如果样品被吸附了，则外标准道比通常要比样品道比提供一个较高的计数效率。

某些类型的组份，诸如磷酸酯、正离子、多价阴离子、蛋白质和碱性氨基酸经常是吸附性的。

有几种方法已用来克服瓶壁的吸附问题。使用聚乙烯或尼龙瓶通常可以防止吸附。如果提供足够的载体物质使瓶壁饱和，吸附也可减到最少。对无机放射性标准溶液，为了防止可

观的吸附,需要每毫升 100 微克的载体物质。克服吸附问题的另一个方法是硅化瓶壁。

如果样品能被计数瓶吸附,那它大概也能吸附在容量瓶、吸量管和所有其他所接触的玻璃表面上,因而所有玻璃制品都应硅化或在试验中尽可能早地加上载体。使用复杂的试剂 [NCS, (双-2-乙基己基)磷酸盐, EDTA] 可以防止瓶壁吸附,特别是无机离子,诸如 $^{23}\text{Na}^+$ 和 $^{32}\text{PO}_4^{3-}$ 的吸附。

我国生产的几种低钾玻璃,和上海九五料、北京九五料、户县九五料、北综 5 号料等,用它们制成低钾玻璃计数瓶,均具有较高的计数效率和较低的本底。目前,这种计数瓶国内已有生产。而对于样品计数率远远大于本底计数率的某些实验,也可以采用医院废弃的青霉素或链霉素瓶,但必须注意,这种瓶子在用前应经过精心挑选,使得同一实验所用瓶子的形状、尺寸和本底均具有一致性,并应满足测量仪器的要求。

石英瓶的光传递性能好,因而计数效率高,并且本底较低,但价昂。还可以将玻璃瓶外表面打毛以改善脉冲高度,氚计数效率可增加 5% 左右。

聚乙烯/聚丙烯瓶

Bell 注意到氯三氟聚乙烯瓶与玻璃瓶计数效率相同,但却降低本底 3—4 倍。Horrocks 和 Studier 与 Rapkin 和 Gibbs 指出了使用聚乙烯计数瓶的几个优点和缺点。

在 20 毫升瓶中聚乙烯瓶的优点是计数效率最高、本底最低。其他优点还有:便宜、可燃、燃烧便于处理、不会破损、有非极化表面可阻止吸附。当减少照明或日光时,光激活敏感性低。

聚乙烯计数瓶最严重的缺点是瓶壁对几种化学物质,特别是对甲苯和二甲苯的渗透性。Rapkin 和 Gibbs 指出甲苯的渗透速率近似为 0.9%/天。Lieberman 和 Moghissi 发现甲苯和二甲苯重量损失速率近乎相同(水和二噁烷只损失一点),并且进一步指出在不同工厂的产品之间有明显的不同。

由于聚乙烯瓶渗透甲苯、二甲苯,使周围环

境具有其蒸气,对人不利,因而建议使用后把聚乙烯瓶立即处理掉。另外,当一定数量的装满的瓶子存放在通风不好的地方时有起火的危险。

当用易渗透物质作为内标准(例如放射性同位素标记的甲苯和正十六烷)时还会发生放射性物质渗透的情况。有很多人报道过其他放射性物质通过聚乙烯容器渗透。例如,直接在液体闪烁瓶中进行的某些酶的试验,利用 $^{14}\text{CO}_2$ 的释放来测量一个羧基 ^{14}C 标记物和一个去羧基酶反应的速率。若使用聚乙烯瓶,当空白反应正在进行时, $^{14}\text{CO}_2$ 趋向于进入瓶壁里,而在加入闪烁液后, $^{14}\text{CO}_2$ 反向溶剂中扩散,而导致空白高和结果不可重复。Hansen 也报告过,把几只聚乙烯瓶中装上没有放射性的闪烁液,另几只只在闪烁液中加上氚标记的甲苯,放在同一台液体闪烁计数器中,那么未含放射性的瓶子中,“本底”计数率迅速随时间增加。

许多聚乙烯瓶由于甲苯渗入了瓶壁而可观地膨胀,这样的瓶子有可能使换样机构堵塞。加热聚乙烯瓶通常会使瓶子变软到无法使用。另外,用 Hyamine 氢氧化物和 NCS 那样的强碱性助溶剂时不宜用聚乙烯瓶。

聚乙烯瓶的又一严重缺点是不透明,从而妨碍了直接观察样品。

由 Bush 注意到的,而后由 Laney 和其他人进一步研究的重要渗透效应就是,一旦甲苯或二甲苯开始渗入瓶壁,那么外标准比就发生了变化。外标准比达到稳定所需的时间为几个小时到几天,不同工厂和不同批的瓶子,这个时间有明显的不同。如果必须使用聚乙烯瓶,那么淬灭校正应当采用样品道比方法。

聚乙烯和聚丙烯瓶由于制造时在壁厚和所用材料的密度上有明显的差别,使得计数瓶的物理特性也会从近于透明到不透明,从柔软到坚硬。

对于渗透厚壁的和高密度的瓶子,起初需要较长时间,但是只要一些分子渗透到外表面,那么溶质损失速率在各工厂生产的瓶子之间就没有多大差别。

虽然有人建议选用聚丙烯,但未曾发现聚丙烯有任何能与聚乙烯竞争的真正的优点。实践说明,塑料瓶性能的重要差别来自原料来源而不是来自塑料的种类。

关于计数瓶的光致发光问题

若在计数前把聚乙烯或玻璃瓶放置于计数器中几个小时,光致发光所造成的虚假计数就不会成为严重的问题。曾有人报告过用聚乙烯瓶有静电效应,但除非气候很干燥,否则不是一个严重的问题。用防电剂处理瓶子,避免用布摩擦瓶子,使瓶子运行时不连续地通过计数器,都能防止静电产生的光致发光。

在契伦科夫计数中,使用聚乙烯瓶时本底明显的减少,比玻璃瓶好。

尼龙瓶

尼龙瓶具有聚乙烯瓶的所有优点:不破碎、可任意处理、本底特别低、抗吸附——没有甲苯或二甲苯吸附的缺点。

尼龙瓶的一个重要缺点就是,当使用强极化溶剂诸如含有大量甲醇的闪烁液、Triton X-100、水和某些混合物时,它会变软和变形。

尼龙瓶的第二个缺点是对光致发光的敏感性高。当曝射于相同的光源时,尼龙瓶引起的发光要比聚乙烯和玻璃高过2—3个数量级,而衰退时间却明显地长。

当闪烁液中所含的极化溶剂极少时,要采取措施防止瓶子曝射于阳光和日光灯下,尼龙瓶就可以使用。

E. C. Long 于 Beckman 公司的生物医学技术报告 TR-600 中曾报道过,在不同塑料计数瓶中溶剂损失的情况如表 2。

小型瓶由于样品制备方面的最新改进,而能计数含水量高达 40% 的样品,这就引起了人们对使用较小计数瓶的兴趣。两种新的小型化瓶组合示于图 1。一种是一个标准的 10 毫升玻璃瓶,以一个 24 毫米聚乙烯瓶作为支撑物,具有玻璃系统的全部优点。当盖子旋紧时,玻璃瓶在聚乙烯支撑物中严密地相合。

另一种小型瓶组合是利用一个标准的 22 毫米玻璃瓶作为支撑物, Sterilin 为它设计了一个

5 毫升聚乙烯内插瓶。它有聚乙烯计数瓶的全部固有缺点,所以不推荐使用它。

表 2 各种塑料计数瓶溶剂损失的情况

瓶	供 给 者	体积 (毫升)	损失(毫克/天)			
			邻-二甲苯	甲苯	二氧六环	水
聚乙烯	Nuclear-Chicago	25	128	187	4.1	0.5
聚乙烯	Packard	25	120	192	3.2	0.1
聚乙烯	Beckman	20	77	101	1.2	0.3
尼 龙	Nuclear-Chicago	25	5.3	10	15	0.4
聚四氟乙 烯	G. Calf Custom 制造	20	无	无	无	无

聚四氟乙烯瓶

我们曾制作了少量的聚四氟乙烯瓶(壁厚为 0.6 毫米),它是各种样品瓶中效率最高而本底最低的一种。

Calf 在低水平计数中曾使用聚四氟乙烯瓶,获得了比聚乙烯瓶高的优值 E^2/B 。聚四氟乙烯瓶对碳氢化合物不渗透,对于液体闪烁计数中所用的任何有机溶剂不起化学作用。并且如果在苯中充分清洗并在 50℃ 真空干燥至少 2 小时,瓶子能重复使用。在这些条件下,当交替测量 ^{14}C 标记样品和本底样品时,没有观察到“记忆效应”(没有剩余溶剂,不污染其后的样品)。因而,这种瓶特别适用于低水平计数。

表 3 各种液体闪烁计数瓶的比较—氦

计 数 瓶	相对 E^2/B	相对 $EV/\sqrt{B}$	缺 点*
硼硅酸盐玻璃瓶	35.9	67.5	DJ
普通玻璃瓶	16.7	47.8	ADJ
聚乙烯瓶	88.9	100.0	EFGIK
尼龙瓶	60.5	71.4	EFGIL
小 瓶	100	37.7	CEFGIKMN
Sterilin 小瓶	51.2	24.9	CEFGIKN
10 毫升小瓶	58.6	39.9	DIJN
石英瓶	65.0	77.6	DHJ

上述几种计数瓶的氦和 ^{14}C 的优值及各种计数瓶的缺点列于表 3 和表 4。优值 E^2/B 是效率平方除以本底计数率,用它衡量液体闪烁谱仪在测量无淬灭或很弱淬灭样品时的最佳性

能。确定优值所用的样品是空气淬灭的 PPO-POPOP 的甲苯溶液。另外,还有一个较有实际意义的优值 $EV/\sqrt{B}$,它考虑到效率、体积和本底,是按照在 PCS 闪烁液中含 40% (V/V) 水样计算出来的。为了尽可能明显地比较瓶子,表中给出相对优值。

表 4 各种液体闪烁计数瓶的比较^{-14C}

计 数 瓶	相对 E^2/B	相对 $EV/\sqrt{B}$	缺 点*
硼硅酸盐玻璃瓶	64.7	87.0	DJ
普通玻璃瓶	42.9	73.2	ADJ
聚乙烯瓶	100.0	100.0	EFGIK
尼龙瓶	87.4	82.1	EFGIL
小 瓶	99.3	34.7	CEFGIKMN
Sterilin 小瓶	91.4	29.4	CEFGIKN
10 毫升小瓶	85.2	50.4	DIJN
石英瓶	89.0	93.3	DHJ

* A——高的本底计数率; B——低的计数效率(表中所列各瓶无此缺点); C——容积有限; D——易破损; E——会膨胀; F——对溶剂助溶剂有反应; G——不能直接看见样品; H——价格贵; I——与外标准法有矛盾; J——样品吸附; K——对溶剂、样品渗透; L——光致发光; M——静电; N——体积、效率相依性强

从表中可见,对弱淬灭样品,小瓶和聚乙烯瓶显得优越,然而这种类型的样品在生物分析研究中是罕见的。大量的样品淬灭较强,所以 20 毫升瓶还是比任一种小瓶来得优越。

计数瓶盖

有几种瓶盖可以采用。选用是否恰当将严重地影响结果。很早就发现,用铝箔镶里的盖子,由于从溶液表面逃脱的散射光子反射回到光电倍增管上而增加计数效率 1—2%,然而必须注意,用含有 NCS 或 Hyamine 的强碱性闪烁液时不能用这种盖子,而应采用聚四氟乙烯镶里的盖子。

曾在 1965 年注意到,具有白色螺旋盖的计数瓶较黑盖子的计数瓶引起比较高的、比较反

常的本底计数率。进一步研究发现,这是由于盖子在日光或实验室日光灯下被光激发所造成的。白色盖的磷光通常在两分钟之内就衰退到正常水平,因而建议在打开计数器的遮光盖板之前应停止计数,在关闭盖子之后 2—3 分钟再开始。使用黑盖子将减小由于光致发光而引起的这种假计数。

有些瓶子适宜用快速咬合或压进的聚乙烯盖。这些盖子只能使用一次,并且不能用在淬灭校正的内标准方法上。

瓶子对脉冲高度谱的影响

通常认为 β 能谱的形状随样品组份而变化,但也要注意当用不同组份的瓶子时也会引起能谱的变化,这个变化能引起计数效率的增加或减小,引起道比的变化,在同时测量两种同位素时也会引起分离度的变化。应根据实验中所用瓶子的类型来确定最佳增益和甄别器的阈值。

体积对计数效率的影响

在 20 毫升计数瓶中,最佳计数效率在 8—16 毫升之间,在这个范围内效率随体积的变化小于 1%,而小型瓶的效率对于体积的小变化敏感得多。

特殊类型的瓶子

Schram 曾评论了在通常的液体闪烁谱仪中那些用做流动式的计数瓶。Asheroft 制造了一种玻璃瓶,可用外样品法来计数 γ 放射核素。Schram 提出了一种为测量生物发光用的改进了的计数瓶。

本文系根据 K. Pairter 写的 (1) Liquid, Scintillation Counting Recent Developments p. 431 1974. (2) Liquid Scintillation Counting vol. 3, p. 34, 1973 编写而成。

[本文于 1977 年 6 月 16 日收到]

(上接第 75 页)

[11] 杉山博之:《代謝》, 12, 247, 1975.
[12] 柿本寿男,三宅正治:《代謝》, 11, 1853, 1974.
[13] Jasser, A. & Gurn, P.S.: J. Neurochem., 20, 45 1973.

[14] Johnson, J. L.: Brain. Res., 37, 1, 1972.
[15] 大塚正徳:《科学》, 44, 130, 1974.

[本文于 1977 年 6 月 2 日收到]