



中华人民共和国国家标准

GB/T 37865—2019

生物样品中¹⁴C的分析方法 氧弹燃烧法

Analysis method of ¹⁴C in biological samples—
Oxygen bomb combustion method

2019-08-30 发布

2020-03-01 实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由全国核能标准化技术委员会(SAC/TC 58)提出并归口。

本标准起草单位:中核核电运行管理有限公司。

本标准主要起草人:高阳、王容仁、谷韶中、朱月龙、夏正海、陈怡君、董美莲、蒋佳宁。



生物样品中¹⁴C的分析方法

氧弹燃烧法

1 范围

本标准规定了氧弹燃烧法分析和测定生物样品中¹⁴C含量的方法和步骤。
本标准适用于分析农畜产品、水产品以及草本植物等生物样品中的¹⁴C含量。
本方法的探测限为 10 Bq/kgC(吸收法),30 Bq/kgC(悬浮法)。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 10259 液体闪烁计数器

EJ/T 527 环境辐射监测中生物采样的基本规定

EJ/T 1008 空气中¹⁴C的取样与测定方法

HJ/T 61 辐射环境监测技术规范

3 原理

干燥后的样品在氧弹中高压富氧的条件下燃烧,生成的二氧化碳由氢氧化钠溶液吸收,制成碳酸钙沉淀。本方法样品中的碳转化为碳酸钙沉淀的回收率高于 95%以上。回收率计算方法参见附录 A。

吸收法:将制成的碳酸钙沉淀用盐酸滴定,释放出的二氧化碳干燥后用专用吸收液吸收,再与闪烁液(4.20)混合制成待测样品在液体闪烁计数器中测量。

悬浮法:将制成的碳酸钙沉淀粉末用研钵研磨成均匀粉末,称取适量粉末,用乳化闪烁液(4.21)的固体悬浮物测量技术直接测定 CaCO₃ 粉末中¹⁴C的比活度。

4 试剂和材料

除非另有说明,在分析中仅使用确认为分析纯的试剂和蒸馏水或去离子水或同等纯度的水。

4.1 ¹⁴C 标准溶液,含有¹⁴C且能够溶解在闪烁液(4.20)中的有机物质,活度浓度建议为 200 Bq/g~2 000 Bq/g。

4.2 含¹⁴C的碳酸钙粉末标准源,活度浓度建议为 20 Bq/g~200 Bq/g。

注:悬浮法时使用。

4.3 本底碳酸钙, $w(\text{CaCO}_3) \geq 99.0\%$ 。

4.4 氢氧化钠溶液, $c(\text{NaOH}) = 3 \text{ mol/L}$ 。

4.5 氢氧化钠溶液, $c(\text{NaOH}) = 0.5 \text{ mol/L}$ 。

4.6 盐酸溶液, $c(\text{HCl}) = 2 \text{ mol/L}$ 。

4.7 氯化钙溶液, $c(\text{CaCl}_2) = 8 \text{ mol/L}$ 。

4.8 氮气, $w(\text{N}_2) \geq 99.9\%$ 。

4.9 氧气, $w(\text{O}_2) \geq 99.0\%$ 。

4.10 无水乙醇, $w(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) \geq 99.5\%$ 。

4.11 氯化铵溶液, $c(\text{NH}_4\text{Cl}) = 5 \text{ mol/L}$ 。

4.12 3-甲氧基丙胺(CAS号 5332-73-0), $w(\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}) > 99.0\%$ 。

注: 宜冷藏保存。

4.13 2,5-二苯基恶唑(CAS号 92-71-7, 简称 PPO), $w(\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{NO}) \geq 98.0\%$ 。

4.14 1,4-双(2-甲基苯乙烯基)苯(CAS号 13280-61-0, 简称 Bis-MSB), $w(\text{C}_{24}\text{H}_{22}) \geq 99.0\%$ 。

4.15 1,2,4-三甲基苯(CAS号 95-63-6), $w(\text{C}_9\text{H}_{12}) \geq 98.0\%$ 。

4.16 丙二醇甲醚(CAS号 107-98-2), $w(\text{C}_4\text{H}_{10}\text{O}_2) \geq 99.0\%$ 。

4.17 1,4-双[2-(5-苯基)恶唑基]苯(CAS号 1806-34-4, 简称 POPOP), $w(\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2) \geq 98.0\%$ 。

4.18 二甲苯(CAS号 1330-20-7), $w(\text{C}_8\text{H}_{10}) \geq 99.0\%$ 。

4.19 聚乙二醇单辛基苯基醚(CAS号 9002-93-1, 中文名称曲拉通 X-100), $w(\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{O}_5) \geq 98.0\%$ 。

4.20 吸收法闪烁液配制方法: 称取 2,5-二苯基恶唑(4.13) 4.4 g 和 1,4-双(2-甲基苯乙烯基)苯(4.14) 0.22 g, 放入 500 mL 的容量瓶中, 向容量瓶依次加入 450 mL 的 1,2,4-三甲基苯(4.15) 和 50 mL 的丙二醇甲醚(4.16), 摇荡混合均匀后冷藏待用。

4.21 悬浮法闪烁液配制方法: 称取 2,5-二苯基恶唑(4.13) 7 g 和 1,4-双[2-(5-苯基)恶唑基]苯(4.17) 0.35 g, 放入 2 L 容量瓶中, 向容量瓶依次加入 1 L 二甲苯(4.18) 和 500 mL 聚乙二醇单辛基苯基醚(4.19), 混合均匀且无明显固体颗粒物。

注: 如果其他闪烁液具有相同的效果, 则可使用其他等效产品来代替。

5 仪器和设备

分析过程中所需的仪器和设备如下:

5.1 分析天平, 感量 1 mg。

5.2 粉碎机。

5.3 研钵, 120 mm。

5.4 烘箱。

5.5 冻干机。

5.6 万用表。

5.7 磁力搅拌器。含磁力搅拌子, 应能够承受 15 kg 以上的重量。

5.8 氧弹。包含气压表、针阀、密封紧固件、燃烧杯、圆筒形合金容器等部件, 氧弹容积应在 1.5 L 以上, 能容纳试样重 10 g 以内, 耐压限值为 6.89 MPa 以上。

5.9 氧弹燃烧装置。由氧弹、镍合金燃烧丝、点火单元等组成(参见附录 B 中图 B.1)。

5.10 氧弹燃烧尾气吸收装置。由 500 mL 锥形瓶、鼓泡器、橡胶瓶塞、橡胶导管和玻璃导管等组成(参见图 B.2)。

5.11 二氧化碳滴定吸收装置。由 500 mL 三口烧瓶、氮气瓶、磁力搅拌器、125 mL 分液漏斗、冰水浴、橡胶导管和玻璃导管等组成(参见图 B.3)。

5.12 pH 精密试纸, 范围 9.5~13.0。

5.13 移液管, 量程 10 mL。

5.14 微量移液器, 量程 200 μL 。

5.15 液闪计数瓶, 20 mL。

5.16 液体闪烁计数器, 仪器的¹⁴C 本底计数率应小于 3 min^{-1} , 对¹⁴C 的计数效率应大于 95%。

6 样品预处理

- 6.1 鲜样品的采集按 EJ/T 527 中的规定进行。
- 6.2 鲜样品称重(W_1)后放入烘箱(5.4),在 105 °C 下烘干至恒重,或使用冻干机(5.5)将水分抽干至恒重。
- 6.3 记录样品干重(W_2)后,将干燥的样品使用粉碎机(5.2)打磨成粉末,放入干燥的玻璃广口瓶中存放。

7 分析步骤

7.1 样品的燃烧与二氧化碳的固定

- 7.1.1 用燃烧杯定量称取 1.0 g~3.0 g 干燥的试样粉末(W_3)。
- 7.1.2 向 150 mL 玻璃烧杯中加入 3 mol/L 的氢氧化钠溶液(4.4)100 mL 和一个搅拌子。
- 7.1.3 将上述玻璃烧杯放置在氧弹(5.8)底部的一侧。
- 7.1.4 在两个电极上连接 15 cm 左右长的燃烧丝,并用万用表(5.6)测量燃烧丝的电阻值。
- 7.1.5 装好氧弹(5.8),并拧紧螺栓和螺钉。
- 7.1.6 向氧弹(5.8)通氧气(4.9),加压至约 2 MPa 后断开与氧气(4.9)的连接。
- 7.1.7 将氧弹(5.8)和点火单元相连,按下点火单元上的点火按钮。
- 7.1.8 将氧弹(5.8)放置于磁力搅拌器(5.7)上,调整至合适位置,搅拌 30 min。
- 7.1.9 将氧弹(5.8)连接尾气吸收装置(5.10),打开氧弹(5.8)上的泄压阀,使氧弹(5.8)里的气体通过装有 400 mL 的 0.5 mol/L 氢氧化钠溶液(4.5)的锥形瓶释放到空气中,直至压力表的示值为零。泄压速率控制在 60 mL/min。

7.2 样品中含碳量的测定

- 7.2.1 取出氧弹(5.8)中的 150 mL 玻璃烧杯,将烧杯里的溶液和锥形瓶里的溶液合并倒入 1 000 mL 的玻璃烧杯中。
- 7.2.2 用 50 mL 的蒸馏水冲洗氧弹(5.8)内部、锥形瓶和 150 mL 玻璃烧杯,洗液倒入 1 000 mL 玻璃烧杯中。
- 7.2.3 将溶液过滤,滤液收集于干净的 1 000 mL 玻璃烧杯中。
- 7.2.4 用 5 mol/L 氯化铵溶液(4.11)调节滤液的 pH 值至 11.0。
- 7.2.5 在滤液中加入 40 mL 的 8 mol/L 氯化钙溶液(4.7),用玻璃棒搅拌后静置 30 min。
- 7.2.6 将滤纸做好标记,放入烘箱(5.4),在 105 °C 下烘干至恒重。
- 7.2.7 待沉淀完全后,安装抽滤瓶、布氏漏斗和滤纸进行抽滤,并分别用蒸馏水和无水乙醇(4.10)冲洗两次。
- 7.2.8 取下滤纸和沉淀,放入烘箱(5.4)在 105 °C 下烘干至恒重。
- 7.2.9 将烘干的沉淀连同滤纸一起用分析天平(5.1)称重,计算出沉淀的净重(W_4)。

注:可用元素分析仪进行样品含碳率的测定。

7.3 吸收法制样

- 7.3.1 用移液管(5.13)向液闪计数瓶(5.15)中加入 9 mL 的 3-甲氧基丙胺(4.12),拧紧盖子擦干外壁后称重。
- 7.3.2 将称重后的液闪计数瓶(5.15)放入冰水浴中冷却 10 min。

- 7.3.3 将烘干的沉淀粉碎后全部置于三口烧瓶中,再加入 150 mL 蒸馏水和一个搅拌子。
- 7.3.4 将三口烧瓶放置在磁力搅拌器上,按照附录 B 中图 B.3 所示安装分液漏斗,向分液漏斗中注入 2 mol/L 的盐酸溶液(4.6),并连接气路。
- 7.3.5 通入氮气(4.8)净化气路 5 min~10 min,然后将氮气(4.8)流速控制在 5 mL/min。
- 7.3.6 将放置于冰水浴中的液闪计数瓶(5.15)按照图 B.3 所示连接好。
- 7.3.7 以 2 mL/min 的流速滴入 2 mol/L 的盐酸溶液(4.6),直到三口烧瓶中的沉淀完全消失、或者液闪计数瓶(5.15)中吸收液逸出气泡的速度明显降低。
- 7.3.8 擦干液闪计数瓶(5.15)外壁后称重,计算吸收的二氧化碳的重量(W_5)。
- 7.3.9 向液闪计数瓶(5.15)中加入 9 mL 的吸收法闪烁液(4.20),拧紧盖子,振荡混合均匀。

注:如若采用元素分析仪进行样品含碳率的测定,则可以将步骤 7.2.3 的溶液直接放入三口烧瓶中,加入搅拌子,按照步骤 7.3.4~7.3.9 进行操作。

7.4 悬浮法制样

- 7.4.1 将步骤 7.2.9 制得的沉淀,用研钵(5.3)研磨成均匀的粉末。
- 7.4.2 用天平(5.1)称取适量(W_6)的沉淀粉末,放入 20 mL 的液闪计数瓶(5.15)中,加入 6 mL 蒸馏水,和 12 mL 悬浮法闪烁液(4.21)。
- 7.4.3 拧紧瓶盖后,将计数瓶(5.15)放在 40 °C~45 °C 水浴中用力振荡,直到样品混合完全、均匀悬浮为止。

7.5 测量

- 7.5.1 液体闪烁计数器(5.16)的条件应满足 GB/T 10259 的要求。
- 7.5.2 测量样品之前,液体闪烁计数器(5.16)应预热 30 min。
- 7.5.3 将待测样品计数瓶(5.15)外壁擦干,放入液体闪烁计数器(5.16)中暗化 24 h 后测量。样品测量时间建议为 300 min 以上。

8 计算

8.1 待测样品中¹⁴C 的放射性比活度

吸收法按式(1)计算待测样品中¹⁴C 的放射性比活度:

$$C_s = \frac{n_s - n_b}{60\omega_1 E W_5} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

- C_s ——待测样品中¹⁴C 的放射性比活度,单位为贝可每千克碳(Bq/kgC);
- n_s ——样品计数率,单位为计数每分(count/min);
- n_b ——本底计数率,单位为计数每分(count/min);
- 60 ——时间转换系数;
- ω_1 ——二氧化碳中碳元素的质量分数,%;
- E ——吸收法中液体闪烁计数器(5.16)对生物样品中¹⁴C 的计数效率(参见附录 C),%;
- W_5 ——待测样品中吸收的二氧化碳的重量,单位为千克(kg)。

悬浮法按式(2)计算待测样品中¹⁴C 的放射性比活度:

$$C_s = \frac{n_s - n_b}{60\omega_2 W_6 E_{悬}} \dots\dots\dots (2)$$

式中:

w_2 ——碳酸钙中碳元素的质量分数, %;

W_6 ——悬浮法制样中,在液闪计数瓶(5.15)中称取的碳酸钙沉淀重量,单位为千克(kg);

$E_{基}$ ——悬浮法中液体闪烁计数器(5.16)对样品中 ^{14}C 的计数效率(按照 EJ/T 1008 执行), %。

8.2 鲜样品的含水率

当样品为鲜样品时,按式(3)计算鲜样品的含水率:

$$MC = \frac{W_1 - W_2}{W_1} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (3)$$

式中:

MC ——鲜样品的含水率, %;

W_1 ——样品鲜重,单位为千克(kg);

W_2 ——样品干重,单位为千克(kg)。

8.3 鲜样品的含碳率

按式(4)计算鲜样品的含碳率:

$$K = \frac{W_4 w_2 (1 - MC)}{W_3} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (4)$$

式中:

K ——鲜样品的含碳率, %;

W_3 ——燃烧的干样品重量,单位为千克(kg);

W_4 ——生成的碳酸钙沉淀重量,单位为千克(kg)。

8.4 鲜样品中 ^{14}C 的放射性比活度

按式(5)计算鲜样品中 ^{14}C 的放射性比活度:

$$C = C_s K \quad \dots\dots\dots (5)$$

式中:

C——鲜样品中 ^{14}C 的放射性比活度,单位为贝可每千克碳(Bq/kgC)。

9 方法的精密度

对于 ^{14}C 放射性比活度为 220.0 Bq/kgC \pm 10.0 Bq/kgC 的环境生物样品,重复性限为 68.5 Bq/kgC,再现性限为 70.7 Bq/kgC。

10 质量保证和质量控制

按照 HJ/T 61 执行。

11 注意事项

在用吸收法制备待测样品时,分析步骤 7.3.5 可防止交叉污染。此外,实验所涉及的仪器和设备也应注意清洗和防沾污,以免引起交叉污染。

附 录 A
(资料性附录)
方法的回收率

按照 7.2~7.3 燃烧已知重量的含碳标准物质,按式(A.1)计算方法的回收率:

$$R = \frac{W_4 \omega_2}{W_3 \omega_3} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (A.1)$$

式中:

R ——样品中 C 的回收率, %;

ω_3 ——样品中碳元素的质量分数, %。

注: 经多次验证,方法的回收率可达 95%以上,因此可以不参与实际计算。



附录 B
(资料性附录)
装置示意图

B.1 氧弹燃烧装置

氧弹燃烧装置参见图 B.1。

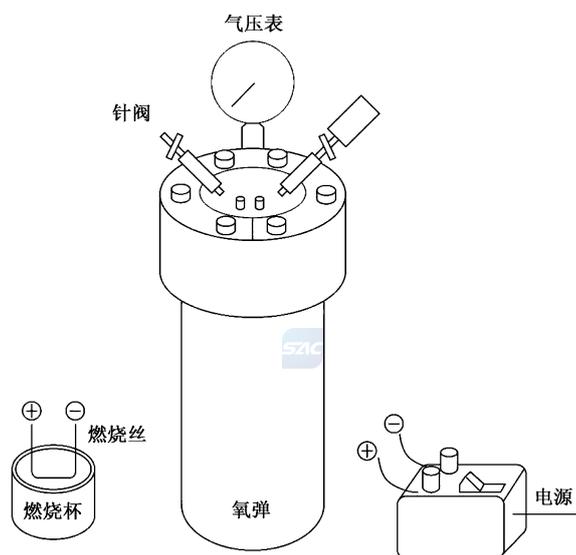


图 B.1 氧弹燃烧装置示意图

B.2 尾气吸收装置

氧弹燃烧尾气吸收装置参见图 B.2。

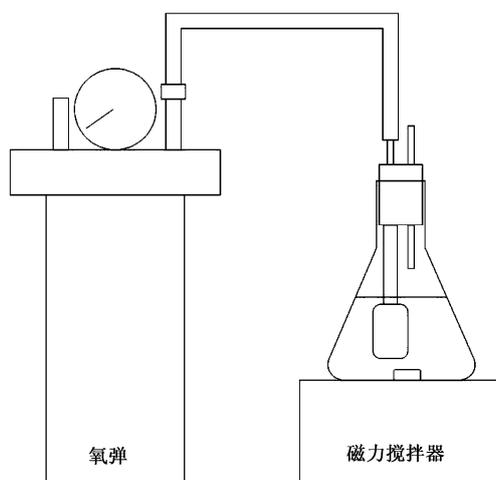


图 B.2 氧弹燃烧尾气吸收装置简图

B.3 二氧化碳滴定吸收装置

二氧化碳滴定吸收装置参见图 B.3。

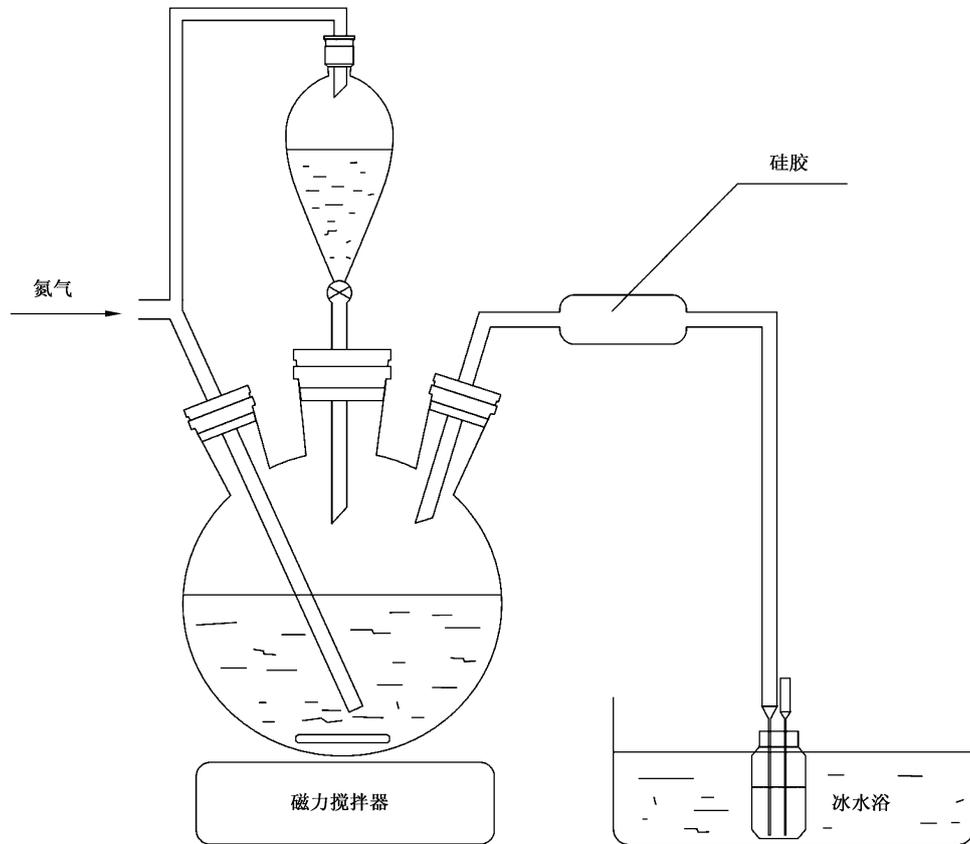


图 B.3 二氧化碳滴定吸收装置简图

附 录 C
(资料性附录)
吸收法猝灭曲线的绘制

C.1 加标样品的制备和测量

- C.1.1 按照步骤 7.3,向三口烧瓶中加入 10 g 本底碳酸钙粉末(4.3),释放和吸收二氧化碳,加入闪烁液(4.20)制备本底样品。
- C.1.2 在液体闪烁计数器(5.16)中测量本底样品,建议测量时间为 1 000 min 以上。
- C.1.3 本底样品测量结束后,用微量移液器(5.14)向本底样品中定量加入不大于 0.1 g 的¹⁴C 标准溶液(4.1)制成加标样品。
- C.1.4 在液体闪烁计数器(5.16)中测量加标样品。
- C.1.5 重复 C.1.1~C.1.4 对至少 6 个吸收不同重量二氧化碳的样品进行标定。

C.2 效率计算与猝灭曲线绘制

C.2.1 按式(C.1)计算每次测量的计数效率:

$$E = \frac{n_c - n_b}{60A_c} \times 100\% \quad \dots\dots\dots (C.1)$$

式中:

n_c ——加标样品的计数率,单位为计数每分(count/min);

n_b ——本底计数率,单位为计数每分(count/min);

A_c ——加标样品中¹⁴C 标准溶液的放射性活度,单位为贝可(Bq)。

C.2.2 根据多次测量的结果,绘制猝灭曲线,通过曲线拟合得到测量效率随猝灭指示参数变化的趋势线及其拟合公式:

$$E = ax^2 + bx + c \quad \dots\dots\dots (C.2)$$

式中:

x ——变量,数值等于猝灭强度示值/100;

a, b, c ——均为拟合公式中的系数。