

Eine vollautomatische Probenverbrennungsanlage für die Messtechnik von H-3 und C-14 im Flüssigszintillations-Spektrometer

Es sind in der einschlägigen Literatur eine ganze Reihe von Quench-Korrekturverfahren¹ beschrieben worden².

Von diesen Verfahren hat nur eines allgemeine Anerkennung gefunden: Die Quench-Korrektur durch das Kanalverhältnis des externen Standards. Die meisten modernen Flüssigszintillations-Spektrometer haben dieses Verfahren so weitgehend automatisiert, dass der Experimentator nur noch eine Quench-Reihe herstellen muss. Die Nachteile dieses Verfahrens sind: 1. Die Herstellung einer Quench-Reihe. 2. Die Möglichkeit eines Irrtums bzw. einer Ungenauigkeit beim Herstellen dieser Reihe und der damit graphisch ermittelten (falschen) Quench-Korrektur. 3. Die für jede Quench-Reihe notwendige Optimierung der Geräteeinstellung³. 4. Die kostspielige Computer-Elektronik zur Verarbeitung und Fixierung der korrigierten Messdaten.

Sicher sind diese Nachteile klein im Hinblick auf jene, die bei früher geübten Verfahren auftraten. Dennoch ist es erstrebenswert, auch die letzten Nachteile zu überwinden. Das gelingt, wenn man erreicht, dass alle Proben immer den gleichen Quench haben. Grundsätzlich ist dann nämlich keine Quenchkorrektur nötig und die einmal getroffene optimale Geräteeinstellung kann solange bestehen bleiben, wie die elektronische Ausrüstung des Gerätes zuverlässig arbeitet.

Am sichersten wird konstanter Quench erreicht, indem jede Probe vollständig verbrannt wird und die Verbrennungsprodukte, CO₂ und H₂O, in die Szintillatorlösung eingebracht werden. Für eine solche Probenverbrennung ist schon 1961 ein Verfahren veröffentlicht worden⁴. Bis vor kurzer Zeit aber war die Probenverbrennung zeitraubend und nicht automatisiert. Jetzt allerdings sind zwei Vorrichtungen bekanntgeworden, die Abhilfe schaffen^{5,6}. Die Vorrichtung von WEGNER et al.⁵, für Probeneinwaagen bis zu 10 mg, basiert auf dem Verfahren von GUPTA⁷. Der Zündvorgang ist automatisiert und manuelle Erleichterungen werden durch gleichzeitige Behandlung von 25 Proben erreicht (Batch-Verfahren).

Die von KAARTINEN⁶ beschriebene Vorrichtung zur Verbrennung H-3 markierter Substanzen ist inzwischen auch für C-14 markierte Substanzen adaptiert worden und eignet sich besonders für Probenmengen zwischen 100 und 2000 mg.

Für die in biochemischen Laboratorien häufig anfallenden Probenmengen zwischen 10 und 100 mg ist eine Vorrichtung, die vollautomatisch arbeitet und auf dem

Verfahren von KALBERER und RUTSCHMANN⁴ beruht, im folgenden beschrieben⁸: Die Apparatur setzt sich zusammen aus (siehe Figur 1) dem Verbrennungsgefäß (5), dem Absorptionsgefäß (12), der automatischen Füll-einrichtung (2), der automatischen Verschlussvorrichtung (4) und dem Belademechanismus (Figur 2). Die gesamte Apparatur wird durch das verlängerte Transportband (18) des Flüssigszintillations-Spektrometers der eigentlichen Radioaktivitäts-Messung vorgeschaltet.

Sie funktioniert folgendermassen: Auf einem drehbaren Schaft (40) sitzt eine Lochscheibe (22) mit 25 Löchern. Jedes dieser Löcher nimmt einen Kegelstumpf (21) mit einem daran befestigten Körbchen aus Platinnetz (9) auf. In dieses Körbchen kommt die eingewogene Probe. Nachdem 25 solcher Proben eingewogen sind und in die Lochscheibe verteilt wurden, wird die Automatik gestartet.

Das Verbrennungsgefäß (5) wird über die Leitung (10) mit Sauerstoff gespült bzw. gefüllt. Durch den Stempel (19) wird der über dem Kolben (8) befindliche Kegelstumpf aus der Lochscheibe herausgedrückt und in den Kolben (8) eingeschoben. Die Sauerstoffzufuhr schliesst sich und die im Körbchen (9) befindliche Probe wird

¹ Erklärung der im folgenden verwendeten Fachausdrücke:

Quench: Verringerung des Wirkungsgrades einer Flüssig-Szintillations-Messung durch Störung der Energieübertragung und/oder Lichtausbreitung im Probenfläschchen.

Quench-Substanz: Substanz die durch ihre Anwesenheit im Szintillatormischung (Scintillator-Cocktail) den Wirkungsgrad der Messanordnung verringert.

Quench-Reihe: eine Serie von 7–10 Proben gleicher Radioaktivität, die steigende Mengen einer Quench-Substanz enthalten. Wirkungs-

grad (η) der Messanordnung: $\eta(\%) = \frac{\text{Impulsrate-Nullrate}}{\text{bekannte Zerfallsrate}} \times 100$

² Zusammenfassungen bei E. RAPKIN, Int. J. appl. Radiat. Isotopes 15, 69 (1964) und J. H. PARMENTIER und F. E. L. TENHAARF, Int. J. appl. Radiat. Isotopes 20, 305 (1969).

³ T. IWAKURA und Y. KASIDA, *Radiation Sample Measurement Techniques in Medicine and Biology* (Int. Atomic Energy Agency, Vienna 1965), p. 447.

⁴ F. KALBERER und J. RUTSCHMANN, *Helv. chim. Acta* 44, 1956 (1961).

⁵ L. A. WEGNER und H. WINKELMANN, *Atompraxis* 16, 1 (1970).

⁶ N. KAARTINEN, *Technical Bulletin* (Packard Instrument Co.) 18, 1, (1969).

⁷ G. GUPTA, *Analyt. Chem.* 38, 1356 (1966).

⁸ Patente sind angemeldet.

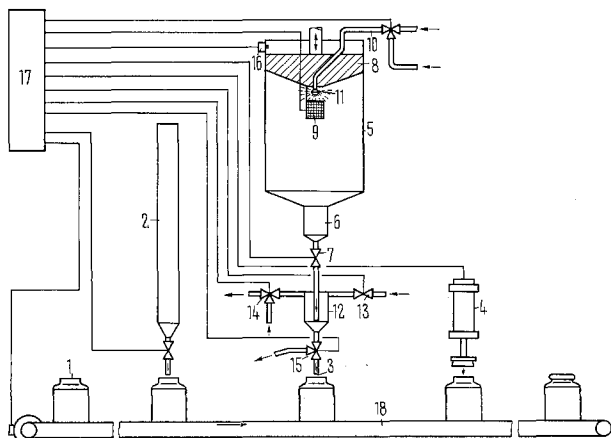


Fig. 1.

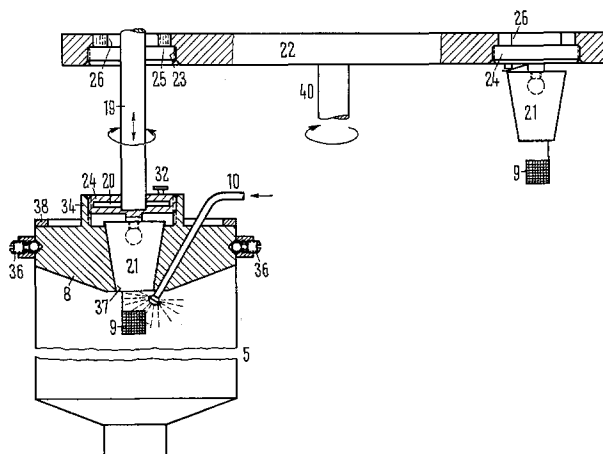


Fig. 2.

durch einen elektrischen Funken gezündet. Während der Verbrennung wird über das Ventil (13) in das Absorptionsgefäß (12) eine vorgegebene Menge Absorptionslösung (z.B. Monoäthanolamin in Methanol) eingefüllt. Ebenfalls während der Verbrennungszeit wird die durch die Fülleinrichtung (2) mit Szintillatorlösung (z.B. Dioxanszintillator⁹) gefüllte Messflasche unter den Ausstoß (3) des Absorptionsgefäßes gefahren. Nach einer der kurzen Verbrennungsdauer angemessenen Verzögerung wird durch eine am Ende des Rohres (10) befindliche Sprühdüse (11) eine bestimmte Menge destillierten Wassers eingeblasen. Sofort nach der Spülung veranlasst die Steuervorrichtung (17) das langsame Absenken des gasdichten Kolbens (8) im Verbrennungsraum, währenddessen die Steuervorrichtung das Einwegventil (7) geöffnet hat und durch das Sprührohr (10) Stickstoff eingeleitet wird. Auf diese Weise werden Verbrennungsprodukte der Probe zusammen mit dem Spülwasser in die Absorptionslösung eingebracht. Wenige Sekunden nach dem Aufsetzen des Kolbens (8) auf dem Boden des Verbrennungsgefäßes (5) öffnet die Steuervorrichtung (17) das Mehrwegventil (15) und die im Absorptionsgefäß (12) befindliche Lösung läuft über den Auslass (3) in das bereitstehende mit Szintillator-Lösung versehene Messfläschchen. Das Transportband (18) setzt sich in Bewegung und bringt diese Fläschchen unter den Mechanismus (4), der das Fläschchen verschließt. Während dieses Vorgangs wird über das Ventil (13) das Absorptionsgefäß (12) gespült. Dann wird durch den Schaft (19) der Kolben (8) wieder in die Lochscheibe zurückbefördert,

und diese dreht sich um eine Stelle weiter, so dass der nächste Kegelstumpf mit der Probe einfahrbereit ist. Die Steuervorrichtung (17) wird durch die Zeitvorwahl des Flüssigszintillationsspektrometers getriggert. Werden 5 min Zählzeiten vorgewählt, so rückt die Lochscheibe alle 5 min um einen Platz weiter. Bei Verwendung einer 25plätzigen Lochscheibe kann die Apparatur also 2 h unbeaufsichtigt vollautomatisch laufen. Wird die Lochscheibe für 50 Proben ausgelegt oder die Zählzeit verkürzt, so kann die Apparatur dementsprechend länger unbeaufsichtigt funktionieren.

Summary. To avoid quench corrections in liquid scintillation counting, an automatic sample-combustion device has been developed. Triggered by the preset time of whatever liquid scintillation counter is available and connected to it by an extended surveyor belt, the designed machine burns each sample, dissolves the combustion products, CO₂ and H₂O, in the scintillator solution and introduces the vial in the liquid scintillation counter.

W. HÜLSEN

Kernforschungszentrum Karlsruhe, Schule für Kerntechnik, Postfach 3640; D-75 Karlsruhe (Deutschland), 9. Juni 1970.

⁹ Dioxanszintillator = in 1000 ml Dioxan befinden sich: 4 g DPO + 60 g Naphthalin + 20 ml Äthylenklykol + 100 ml Methanol.

A Simple Method for the Study of the Uptake of Radioactive ³²P Phosphate by Red Blood Cells

Generally, uptake of phosphate labelled with ³²P by red blood cells is studied either by determining the decrease in radioactivity of the medium¹⁻⁷ or by determining the increase of the radioactivity of the cells after centrifuging and washing with medium of 0°C⁸⁻¹⁰. The former method is less satisfying for the study of initial rates of uptake, because the decrease of radioactivity will be small after short incubation periods. The second method, on the other hand, is rather elaborate because of the washing procedure. This washing is avoided in the following method which consists essentially in one centrifugation and determining the radioactivities of equal volumes of cell sediment and corresponding supernatant. The ratio of the activities is a measure for the uptake of the isotope. We have determined phosphate uptake according to this method and the results are compared with those of the other two procedures.

Material and methods. The new method was carried out as follows: uptake of phosphate is stopped at appropriate times by pipetting 2 ml of red blood cell suspension into centrifuge tubes chilled at 0°C. Five capillary tubes are filled for about 80% with the chilled suspension, and are centrifuged in a hematocrit centrifuge after sealing with a small gas flame. The capillaries are then placed in a copper plate provided with 5 parallel holes in which they just fit. The slide is covered by a 1 mm copper shield with on top 2 mm of lead. An opening is left in this shield in the middle and perpendicular to the capillaries (Figure 1). A Geiger-Müller tube is placed just above this opening. In this way we are able to determine the radioactivity of a 5 mm part of the capillaries filled with trapped cells or medium. The mean internal diameter of the capillaries used is 1 mm. The concentration of the absorbed phosphate is calculated by means of equation (1).

$$C_{c,t} = \frac{(A_{c,t} - \text{ECF } A_{s,t}) C_{s,0}}{(1 - \text{ECF}) \left(A_{s,t} + \frac{(A_{c,t} - \text{ECF } A_{s,t}) H (1 - \text{ECF})}{100 - H (1 - \text{ECF})} \right)} \quad (1)$$

$C_{c,t}$ is the concentration of the absorbed phosphate in mmoles/l of cells. $A_{c,t}$ and $A_{s,t}$ are the activities of a 5 mm piece of the capillaries filled with sedimented cells and with supernatant respectively. ECF is the fraction of extracellular fluid in the cell sediment. $C_{s,0}$ is the concentration of added phosphate expressed in mmoles/l of medium (concentration in the supernatant at zero time). H is the hematocrit value in percents. The values of ECF are determined with ¹²⁵I labelled iodinated serum albumin after a modification of the procedure of BEILIN et al.¹¹ by using capillaries instead of 11 mm centrifuging tubes and avoiding in this way the necessity of freezing the tubes first before cutting them into pieces.

¹ B. VESTERGAARD-BOGIND, *Biochim. biophys. Acta* 66, 93 (1963).

² A. ZIPURSKY and L. G. ISRAELS, *Nature*, Lond. 189, 1013 (1961).

³ C. B. MUELLER and A. B. HASTINGS, *J. biol. Chem.* 189, 869 (1951).

⁴ H. JONAS, *Biochim. biophys. Acta* 13, 241 (1954).

⁵ T. L. DORMANDY, *J. Physiol.* 180, 708 (1965).

⁶ E. GERLACH, B. DEUTICKE and J. DUHM, *Pflügers Arch. ges. Physiol.* 280, 243 (1964).

⁷ D. R. H. GOURLEY, *Am. J. Physiol.* 164, 213 (1951).

⁸ B. DEUTICKE, R. DIERKESMANN and D. BACH, in *Stoffwechsel und Membranpermeabilität von Erythrocyten und Thrombocyten* (Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1968), p. 430.

⁹ J. L. H. LAITY, *Biochem. J.* 71, 528 (1959).

¹⁰ W. K. RUMMEL, K. PFLEGER and E. SEIFEN, *Biochem. Z.* 330, 310 (1958).

¹¹ L. J. BEILIN, D. EYEIONS, G. HATCHER, G. J. KNIGHT, A. D. MUNRO-FAURE and J. ANDERSON, *J. gen. Physiol.* 50, 75 (1966).