

CONTRIBUTION A L'UTILISATION
DES TECHNIQUES RADIOISOTOPIQUES
POUR L'ÉTUDE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DU SOL

par

A. GUCKERT, P. ROGER (*) et F. JACQUIN

Centre de Pédologie, C. N. R. S. et E. N. S. A. Nancy

SOMMAIRE

A. — INTRODUCTION

B. — RAPPEL DE DEFINITIONS

C. — TECHNIQUES DE MESURE

I. — *Compteurs Geiger-Müller et à flux gazeux*

- 1) Principe
- 2) Description et fonctionnement d'un ensemble de comptage Geiger-Müller
- 3) Description et fonctionnement d'un compteur à flux gazeux
- 4) Détermination de la courbe de palier du compteur
- 5) Causes d'erreurs
 - a) erreurs statistiques
 - b) erreurs dues au compteur
 - c) erreurs dues à l'échantillon
- 6) Préparation des échantillons

II. — *Compteurs en scintillation liquide*

- 1) Principe
- 2) Description et fonctionnement d'un compteur à scintillation
- 3) Réglage et caractéristiques du compteur
- 4) Scintillateurs utilisés
 - a) solvants
 - b) solutés

(*) Elève ORSTOM.

- 5) Facteurs influençant le comptage
 - a) bruit de fond
 - b) quenching
 - c) méthodes de correction du quenching
 - méthode de dilution
 - méthode du rapport des canaux
 - méthode de standardisation interne
 - méthode de standardisation externe automatique

D. — APPLICATION A L'ETUDE DE LA MATIERE ORGANIQUE DU SOL

I. — *Protocole d'incubation*

- 1) Dispositif expérimental
- 2) Répartition du carbone après incubation

II. — *Caractérisation qualitative et mesure de la radioactivité dans les différents produits résultant de l'incubation et du fractionnement de la matière organique*

- 1) Caractérisation qualitative : autoradiographie
- 2) Mesure de la radioactivité
- 3) Récupération et dosage du gaz carbonique
 - a) méthodes simples
 - b) méthodes mixtes
- 4) Combustion
 - a) méthode de la fiole de Schöniger
 - b) banc de microanalyse Jouan modifié

III. — *Aspects pratiques du comptage en scintillation liquide*

- 1) Composition des mélanges de scintillation utilisés lors des diverses expériences
- 2) Testage des mélanges de scintillation en fonction du quenching
 - a) quenching chimique
 - b) quenching de coloration
- 3) Autres facteurs influant sur le rendement de comptage
 - a) influence de la température
 - b) influence du temps
 - c) influence du volume utilisé
 - d) comparaison flacons en verre - flacons en plastique
- 4) Courbes d'étalonnage des mélanges de scintillation par la méthode de standardisation externe

E. — CONCLUSION

A. — INTRODUCTION

Les études portant sur la matière organique du sol et son évolution ont progressé considérablement au cours des dernières années ; néanmoins, les méthodes d'investigation chimiques traditionnelles deviennent insuffisantes pour suivre les divers processus de dégradation et de synthèse se produisant au sein de cette matière organique. Il s'est avéré utile, voir indispensable dans certains cas, d'utiliser des radioisotopes comme éléments traceurs pour suivre la destinée de divers constituants organiques incorporés au sol. L'isotope radioactif le plus fréquemment utilisé dans ces travaux correspond au carbone 14, isotope relativement commode d'emploi du fait de sa période très longue et de sa relative innocuité pour le manipulateur. Signalons que le tritium a servi également à l'étude des composés humiques (SCHARPENSEEL 1960).

Les composés organiques du sol prenant naissance essentiellement par suite de la décomposition des matières végétales, divers modèles de chambres de végétation ont été réalisés pour assurer la production de végétaux uniformément marqués au ^{14}C (SCULLY *et al.* 1955, ANDERSEN *et al.* 1961, SCHARPENSEEL 1961, SMITH *et al.* 1962, SAUERBECK *et FUHR* 1963, ZELLER *et al.* 1963).

Les processus de décomposition et d'humification de ces substrats carbonés radioactifs additionnés au sol ont fait l'objet d'un certain nombre de travaux récents (MAYAUDON et SIMONART 1958, 1959, 1963, SORENSEN 1963, JENKINSON 1965, CHEKALOV et ILLUVIEVA 1962, FLAIG et HAIDER 1965, FREYTAG et IGEL 1964, 1968, CHAHAL *et al.* 1966, SAUERBECK 1968, FUHR 1968, ZELLER *et al.* 1968). Divers auteurs (JENKINSON 1960, 1963, GOSWAMI et DATTA 1961, FREYTAG 1963, SAUERBECK *et FUHR* 1966) se sont également penchés sur les problèmes posés par l'application des techniques de mesure du carbone 14 à l'étude de la matière organique du sol.

Cette note technique a pour but essentiel de résumer les méthodes d'utilisation et de comptage du carbone 14 et de montrer les adaptations particulières que nous avons été amenés à effectuer en fonction de certains problèmes spécifiques de l'étude de la matière organique du sol.

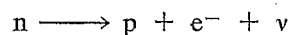
B. — RAPPEL DE DÉFINITIONS

Avant de décrire les techniques de mesure, nous rappellerons quelques notions de base. Un même

élément chimique peut présenter divers noyaux de même nombre atomique comportant des protons identiques mais des neutrons en nombre différent ; ces noyaux appelés isotopes peuvent être stables ou radioactifs. Le carbone possède ainsi 5 isotopes dont les masses varient de 10 à 14. Le carbone stable correspond à un mélange de ^{12}C et ^{13}C (1,1 % de ^{13}C et 98,9 % de ^{12}C).

Les isotopes radioactifs du carbone présentent des périodes très variables ; la période correspondant au temps T au bout duquel la moitié des atomes initiaux se sont désintégrés. La période du ^{10}C est de quelques secondes et celle du ^{11}C de 20,5 minutes ; le ^{14}C se distingue par sa période très longue, de l'ordre de 5.570 ans.

Le ^{14}C émet des particules β de charge négative dont l'énergie est faible, de l'ordre de 0,15 MeV (million d'électrons volt), ce rayonnement est constitué d'électrons de différentes énergies. Schématiquement, l'émission β apparaît lorsque le noyau atomique est instable parce qu'il contient des neutrons en excès par rapport aux protons ; elle serait le résultat de la transformation d'un neutron excédentaire en proton, avec émission d'un électron et d'un neutrino :



Le rayonnement β du carbone 14, quoique de faible énergie, est suffisant cependant pour impressionner une plaque photographique (autoradiographie), produire des phénomènes d'ionisation dans les gaz (compteurs Geiger-Müller), ou provoquer l'émission de photons en excitant des substances radioluminescentes (comptage en scintillation).

L'unité de radioactivité est le Curie. Par définition le Curie représente la quantité d'un isotope radioactif dans laquelle $3,7 \times 10^{10}$ atomes sont désintégrés par seconde ; cette unité est définie par conséquent par un taux de désintégration et non par une quantité de matériel. En pratique, on utilise plus couramment des sous-multiples du Curie, tel le millicurie (10^{-3} C) ou le microcurie (10^{-6} C). La radioactivité spécifique d'un élément représente le nombre de désintégrations par unité de poids d'échantillon et par unité de temps.

Notons également la différence entre l'activité absolue d'un échantillon, c'est-à-dire le nombre de désintégrations par seconde ou par minute (d. p. m.) et l'activité mesurée exprimée en nombre de coups par seconde ou par minute enregistrés par comptage (c.p.m.).

Le rendement du comptage correspond donc au rapport :

$$\frac{\text{Activité mesurée (c. p. m.)}}{\text{Activité absolue (d. p. m.)}} \times 100$$

Avant d'aborder les problèmes pratiques posés par l'emploi ^{14}C dans les études concernant la matière organique du sol, nous examinerons les principes, le fonctionnement et les réglages des compteurs utilisés pour la détermination de la radioactivité.

C. — TECHNIQUES DE DÉTECTION ET DE MESURE DE LA RADIOACTIVITÉ

On peut classer les détecteurs en deux catégories :

— ceux faisant appel aux phénomènes d'ionisation : compteurs Geiger-Müller et à flux gazeux,

— ceux entraînant la formation d'un signal lumineux enregistré par un photomultiplicateur : compteur à scintillation.

I - Compteurs Geiger-Müller et à flux gazeux

1) Principe

Une particule chargée subit une perte d'énergie en traversant la matière, par suite de l'interaction du champ électrique de cette particule avec les électrons orbitaux des atomes voisins. Il se produit un ralentissement de la particule et une accélération de certains électrons qui peuvent acquérir assez d'énergie pour quitter l'orbite de leur atome. Sur sa trajectoire, la particule en mouvement provoque par conséquent des phénomènes d'ionisation ayant pour résultat la formation d'électrons libres et d'ions plus lourds constitués par le reste des atomes. Lorsque ces phénomènes d'ionisation se produisent entre deux électrodes, l'établissement d'une différence de potentiel provoque une migration des ions suivant le signe de leur charge (fig. 1).

Les ions captés par les électrodes provoquent une variation de potentiel brusque que l'on appelle impulsion ; celle-ci sera amplifiée et enregistrée dans un circuit extérieur. Le nombre des ions collectés sur les électrodes avant leur recombinaison dépend de la différence de potentiel (d. d. p.) appliquée aux électrodes ; l'impulsion obtenue sera donc fonction

de cette d. d. p. En faisant varier la tension entre l'anode et la cathode du détecteur et en prenant pour paramètre l'amplitude des impulsions, on peut tracer une courbe (fig. 2) présentant 5 régions caractéristiques :

— *zone 1* : La différence de potentiel et le champ électrique étant faibles, seule une fraction des électrons libérés atteint l'électrode, les autres sont recombinaisonnés avec les ions positifs.

— *zone 2* : Au-delà d'une certaine valeur de la tension tous les ions sont collectés par les électrodes, la hauteur d'impulsion est constante quelle que soit la valeur de la d.d.p. Nous nous trouvons dans la région de fonctionnement des « chambres d'ionisation ».

— *zone 3* : Les ions acquièrent une énergie cinétique plus grande et provoquent des ionisations secondaires par collision avec les molécules de gaz ; cette ionisation par choc donne une impulsion dont l'amplitude est proportionnelle au nombre d'ions initiaux produits par la particule à détecter. Cette région correspond aux « compteurs proportionnels ».

— *zone 4* : La proportionnalité tend à disparaître.

— *zone 5* : Au-dessus d'une valeur du voltage appelée seuil de Geiger, il se produit des ionisations en chaîne désignées sous le terme « d'avalanche électronique ». Pour un même voltage, la hauteur d'impulsion sera la même quel que soit le nombre d'ions initiaux ; chaque particule ionisante émise par la substance radioactive à détecter donnera une impulsion, cette région est utilisée dans les cas des compteurs Geiger-Müller.

— *zone 6* : Le compteur devient instable et entre en décharge continue.

2) Description et fonctionnement d'un ensemble de comptage Geiger-Müller

L'ensemble de comptage comprend (fig. 3) :

— le compteur G. M. produisant une impulsion chaque fois qu'une particule ionisante pénètre dans le volume sensible du compteur ;

— un circuit d'alimentation fournissant la haute tension ;

— un amplificateur amenant les impulsions initiales au compteur à un niveau suffisant pour déclencher l'échelle ;

— l'échelle et l'enregistrement électroniques comptant et totalisant les impulsions reçues.

Le détecteur se compose d'un cylindre métallique et d'un fil coaxial de très faible diamètre représentant l'électrode collectrice (anode) ; la cathode correspondant à la coque de l'enceinte. Une protection de plomb entoure le compteur pour réduire à une valeur minimum constante le mouvement propre de l'appareil ; ce mouvement propre ou bruit de fond

du détecteur, représente le nombre d'impulsions enregistrées en l'absence de source radioactive. Ce détecteur est rempli d'un mélange gazeux variable, soit : argon - vapeurs d'alcool, argon - méthane, chlore ou brome.

Les composés gazeux ont été choisis de telle manière que d'une part les électrons restent libres et ne forment pas d'ions négatifs (ralentissement de la réponse des détecteurs) et d'autre part, pour éviter que l'avalanche électronique ne se poursuive

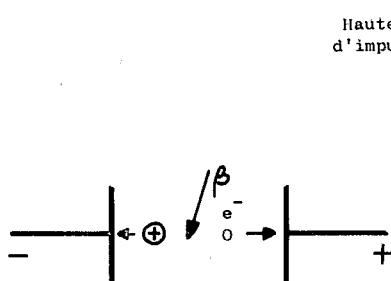


Figure 1

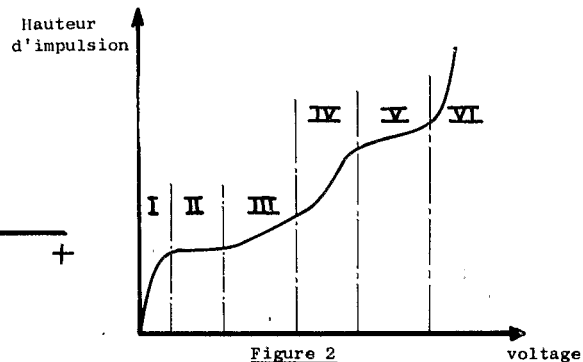


Figure 2
Hauteur d'impulsion en fonction de la tension
(D. BLANC, 1959)

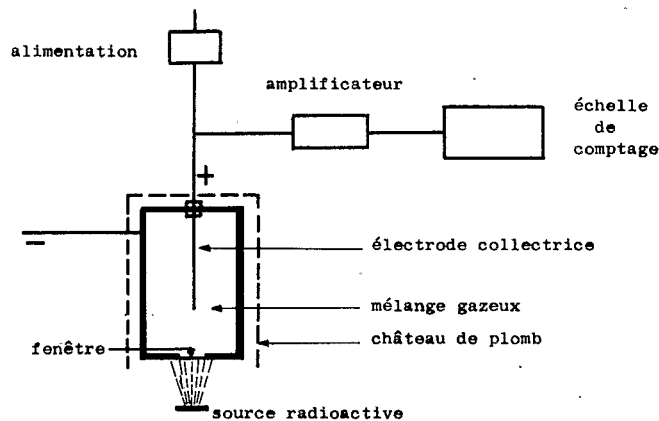


Figure 3 : Schéma d'un compteur Geiger-Müller

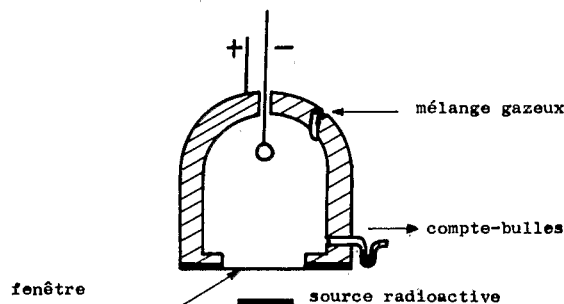


Figure 4 : Schéma d'un compteur à flux gazeux

indéfiniment. En effet, les ions positifs en se déchargeant sur la coque du compteur (cathode) pourraient arracher des électrons et créer ainsi une nouvelle impulsion. Dans le mélange gazeux les vapeurs d'alcool et de méthane servent à capter l'énergie des ions positifs. De ce fait, le compteur est dit « auto-coupeur », car ce mécanisme interne assure l'arrêt de la décharge ; chaque ionisation ne peut donner lieu qu'à une seule impulsion ; le phénomène très rapide est terminé en 10^{-6} à 10^{-7} secondes.

Le ^{14}C émettant des particules β d'énergie faible, une absorption importante de ces particules se produit sur leur trajet. Pour réduire cette absorption, la paroi du compteur appelée fenêtre doit être la plus mince possible et très proche de l'échantillon à compter. Néanmoins, pour des appareils à fenêtres dites minces, le rendement du comptage reste très faible, de l'ordre de 10 % ; ce rendement peut être amélioré en introduisant l'échantillon dans le volume du détecteur, cependant, cette opération présente des inconvénients, en particulier le risque de contamination du compteur.

3) Description du compteur à flux gazeux

Il existe actuellement des compteurs à circulation gazeuse (« flow counter ») permettant d'obtenir des taux de comptage nettement supérieurs aux compteurs Geiger-Müller ordinaires ; un courant gazeux traverse en permanence le volume sensible du détecteur, celui-ci étant séparé de l'échantillon par une fenêtre ultra-mince. L'appareil schématisé par la figure 4 correspond à ce type de compteur ; l'anode est représentée par un fil en forme de boucle isolé du corps métallique du compteur, constituant la cathode ; entre les deux électrodes est établie une différence de potentiel de l'ordre de 1.500 volts. Un mélange gazeux comprenant du méthane et de l'argon, ou du propane et de l'argon, traverse le compteur en courant lent (1 bulle par seconde) ; il est évacué par la fenêtre poreuse et un orifice comportant un compte-bulle. Le gaz étant renouvelé sans cesse, le compteur ne peut vieillir par suite de l'ionisation des gaz.

4) Détermination de la courbe de palier du compteur

Plaçons une source radioactive sous la fenêtre du compteur et enregistrons les désintégrations en fonction du voltage appliqué aux électrodes. Jusqu'à une certaine valeur de la tension, aucune impulsion n'est enregistrée, hormis le mouvement propre de

l'appareil, le comptage débute à partir de ce seuil de tension et croît très rapidement jusqu'à atteindre une certaine valeur qui restera relativement constante pendant un intervalle de tension donné. La courbe représentant le taux de comptage en fonction de la tension (fig. 5) montre un palier, correspondant à la région d'utilisation du compteur. Dans cette région chaque particule émise par la source est comptée et donne un même nombre d'impulsions. Lorsque la tension dépasse 1.600 volts, la courbe croît rapidement, on entre dans la zone de décharge et le comptage devient impossible. Le palier obtenu est une caractéristique du compteur et permet de définir la tension d'utilisation de cet appareil.

5) Causes d'erreurs

a) *erreurs statistiques* : Les fluctuations du nombre de coups enregistrés par le compteur sont liés à la nature même du rayonnement. Pratiquement, pour réduire cette cause d'erreur, on compte chaque échantillon plusieurs fois, ou on effectue les déterminations pendant un temps suffisamment long.

b) *erreurs dues au compteur* : Au cours des ionisations successives, se produisant pendant un laps de temps de 10^{-6} à 10^{-7} secondes, aucune nouvelle impulsion ne peut être enregistrée ; cette période représente le temps mort du compteur. Si l'activité de l'échantillon est trop grande, des erreurs par défaut peuvent ainsi se produire.

c) *erreurs dues à l'échantillon* : Ces erreurs sont de loin les plus importantes, elles se subdivisent en deux catégories : les erreurs d'ordre géométrique et les erreurs dues à l'épaisseur de l'échantillon. Le rayonnement du carbone 14 étant relativement mou, la radioactivité mesurée dépend de la dimension, de la forme et de la position de l'échantillon par rapport au compteur ; des variations importantes d'un de ces facteurs affectent considérablement les résultats. En outre, si l'épaisseur des échantillons devient importante, il n'y a plus de proportionnalité entre le poids de substance et la radioactivité mesurée. Les particules émises par les couches inférieures sont arrêtées par les couches supérieures, il se produit un phénomène d'auto-absorption. Dans ce cas, il faut procéder à des corrections afin de comparer entre eux les résultats obtenus avec divers échantillons.

Les échantillons d'épaisseur égale ou supérieure à une certaine limite (de l'ordre de 10 mg/cm^2 pour le CO_3Ba) sont dits « infiniment épais » ; inverse-

ment, certains échantillons peuvent être suffisamment minces pour qu'aucune radiation émise dans l'espace au-dessus de l'échantillon ne soit absorbée. Dans ces deux cas les résultats sont comparables. Par contre, pour les échantillons non « infiniment épais » et non « infiniment minces », il faut effectuer des corrections à l'aide d'une courbe d'« auto-absorption ». On prépare alors une série d'échan-

6) Préparation des échantillons

Les échantillons à compter sont disposés sur des coupelles en aluminium et glissés sous la fenêtre du compteur. Si les substances se trouvent sous forme liquide, on dépose un volume connu de liquide sur la coupelle et l'on procède à une dessiccation par les I. R. avant le comptage.

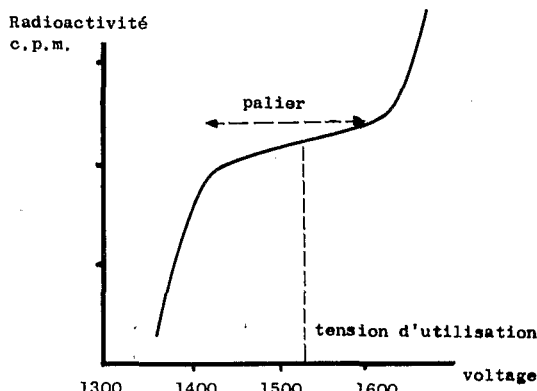


Figure 5: Courbe de palier du compteur à flux gazeux

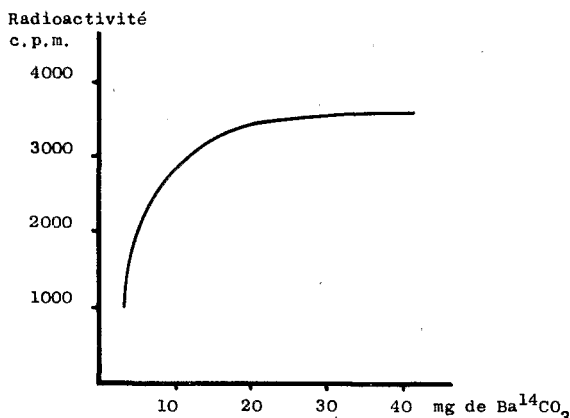


Figure 6 : Courbe d'autoabsorption

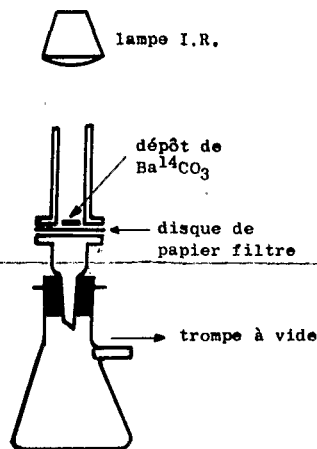


Figure 7 : Dispositif de filtration

tillons contenant des quantités croissantes du même produit radioactif. Les nombres de c. p. m. enregistrés donnent une courbe caractéristique en fonction du poids des échantillons (fig. 6). Cette courbe présente un palier correspondant à l'épaisseur limite à partir de laquelle la radioactivité est constante et proportionnelle à l'activité spécifique du composé étudié.

Pour faciliter les comparaisons entre échantillons différents, on ramène souvent le ^{14}C à une même forme chimique en transformant le ^{14}C contenu dans les substrats organiques en $^{14}\text{CO}_2$ par différentes techniques d'oxydation qui seront décrites dans la deuxième partie du présent article. Le gaz carbonique fixé par une base (soude, potasse) est précipité de sa solution alcaline par addition de

chlorure de baryum, le carbonate de baryum ^{14}C formé est filtré, déposé sur les coupelles en aluminium et compté.

La préparation des disques de carbonate de baryum doit être réalisée avec beaucoup de soin pour limiter les erreurs d'ordre géométrique. Aussi, pour réduire les manipulations, avons-nous utilisé le dispositif de filtration reproduit sur la figure 7. Le CO_2Ba filtré sur les disques de papier ayant la dimension des coupelles du compteur est lavé à l'alcool puis séché avec précaution pour que les dépôts restent adhérentes au papier et ne se fendent pas ; le poids du précipité est déterminé après séchage, puis l'échantillon passé au compteur.

En conclusion, les mesures de radioactivité à l'aide de compteurs Geiger-Müller ne nécessitent pas de dépenses en matériel trop élevées et permettent des investigations intéressantes, si les échantillons présentent une activité suffisante.

La mise au point des compteurs à circulation gazeuse, mieux appropriés à la détection des isotopes de faible énergie comme le carbone 14 a permis d'améliorer sensiblement les rendements de comptage. Cependant lorsque la radioactivité des échantillons devient relativement faible par suite de manipulations complexes, il devient intéressant, voire même indispensable de détecter le ^{14}C à l'aide des compteurs réalisant des rendements nettement supérieurs, tels que les compteurs en scintillation.

II - Compteurs en scintillation liquide

1) Principe

La technique de comptage en scintillation est basée sur les interactions des rayonnements nucléaires avec certains composés fluorescents ; ces composés appelés également scintillateurs, ont la propriété de réémettre des photons, c'est-à-dire de produire une émission de lumière fluorescente lorsqu'ils sont excités par une radiation nucléaire ; cette lumière présentant une décroissance qui est une fonction exponentielle du temps. L'échantillon à compter comprendra les trois éléments suivants : le matériel radioactif, un solvant organique et un ou plusieurs scintillateurs. Les particules β émises par le ^{14}C sont absorbées et leur énergie est transmise au scintillateur par l'intermédiaire du solvant. Le scintillateur sous l'effet de cette excitation, produit une émission de lumière, le nombre de photons lu-

mineux réémis étant proportionnel au nombre d'excitations donc à l'énergie initiale de la particule. Les photons ainsi produits sont absorbés par un photomultiplicateur transformant les scintillations en impulsions électriques enregistrées et comptées ; le photomultiplicateur délivre donc une impulsion électrique dont l'amplitude est proportionnelle au nombre de photons reçus, c'est-à-dire à l'énergie du rayonnement β incident.

2) Description et fonctionnement d'un compteur à scintillation

Le compteur à scintillation schématisé sur la figure 8, est avant tout caractérisé par son photomultiplicateur assurant la conversion de la lumière en courant électrique. Un photomultiplicateur comprend un tube en verre dans lequel se trouvent une photocathode associée à un certain nombre d'électrodes (dynodes) portées les unes par rapport aux autres à des tensions croissantes pour accélérer les électrons (fig. 9). La photocathode produit des électrons primaires lorsqu'elle est frappée par des photons émis par le scintillateur. L'accélération de ces derniers et leur multiplication a lieu sur les dynodes ; il arrive en fin de compte sur l'anode collectrice une avalanche d'électrons provoquant une chute de tension, c'est-à-dire une impulsion électrique enregistrée par un circuit électronique annexe.

Le compteur que nous utilisons est un spectromètre Tri-Carb modèle 3003, PACKARD, possédant deux tubes photomultiplicateurs et comportant trois canaux d'analyses indépendants avec trois échelles de comptage. Le comptage s'effectue en circuit de coïncidence, seuls sont donc enregistrés sur l'échelle les signaux transmis simultanément par les deux tubes photomultiplicateurs (fig. 10). Pour réduire l'effet thermoionique dû aux photomultiplicateurs, ceux-ci sont placés dans une enceinte réfrigérée et les comptages s'effectuent à plus ou moins $0,5^\circ\text{C}$.

3) Réglage et caractéristiques du compteur

Pour utiliser rationnellement le compteur, il convient de déterminer dans des conditions expérimentales données le réglage optimum de la fenêtre du compteur et du gain ; la fenêtre correspondant à un intervalle d'énergie bien défini, et le gain représentant l'amplification obtenue par le système de dynodes du photomultiplicateur et par l'amplificateur. En réalité, le bouton de réglage du gain permet d'atténuer l'amplification initiale de 100 % à 0 %, au réglage 100 % aucune réduction de

l'amplification n'intervient. Le réglage de la fenêtre de comptage est obtenu à l'aide de deux discriminateurs (potentiomètres) comportant des graduations allant de 0 à 1.000, ces unités correspondant à des quantités d'énergie. Pour clarifier la suite de l'exposé, examinons ce qui se passe dans un canal avec un seuil inférieur A et un seuil supérieur B du discriminateur. La haute tension étant appliquée aux

et seul un petit nombre dépasse le seuil inférieur A de la fenêtre. Le nombre de c. p. m. enregistré sera relativement bas. Si par contre un accroissement du gain provoque des impulsions plus fortes, la plupart se situent dans la fenêtre choisie, et la courbe du nombre de c. p. m. présente alors un maximum. Si enfin, une amplification plus grande est appliquée, les impulsions atteignent une plus grande amplitude

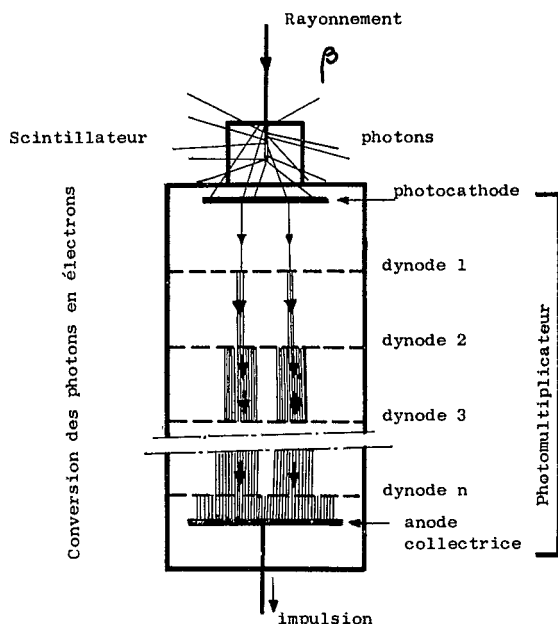


Figure 8 : Schéma de principe d'un compteur à scintillation (BIRKS, 1964)

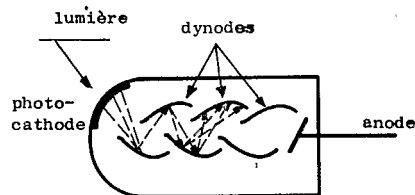


Figure 9 : Schéma d'un photomultiplicateur type Du Mont (BLANC, 1959)

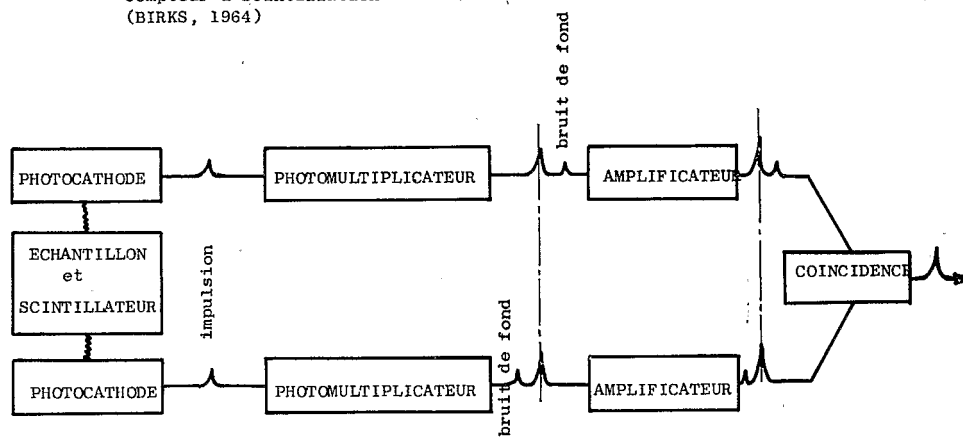


Figure 10 : Diagramme d'un système de comptage en coïncidence (I.A.E.A., 1964)

photomultiplicateurs lorsque nous modifions le réglage du gain, le nombre de coups par minute enregistré dans la fenêtre ainsi déterminée, varie ; si le gain, c'est-à-dire l'amplification reste faible, les impulsions produites demeurent de faible amplitude

et dépassent la fenêtre déterminée d'où une décroissance du nombre de coups par minute. Le schéma 11 représente une telle courbe obtenue en faisant varier le gain dans une fenêtre de 50 à 1.000 divisions.

En pratique, il convient de déterminer par conséquent la fenêtre dans laquelle on enregistre le maximum de coups par minute avec le meilleur rendement de comptage. A titre d'exemple si nous introduisons dans la chambre de comptage, un échantillon standard de benzène ^{14}C additionné d'un scintillateur en solution dans le toluène, en affichant des fenêtres successives de 50 à 250, 50 à 500, 50 à 750, 50 à 1.000 et 50 à ∞ , et en faisant varier

le gain de 0 à 20 % nous obtenons une série de courbes (fig. 12) présentant des maximum croissants. En se reportant à ces courbes, nous constatons que pour le standard utilisé, le meilleur rendement de comptage est obtenu avec une fenêtre de 50 à 1.000 et un réglage du gain de l'ordre de 6 %.

En maintenant la fenêtre constante et étroite (20 unités entre le discriminateur inférieur et supérieur) et en enregistrant le nombre de c. p. m. dans

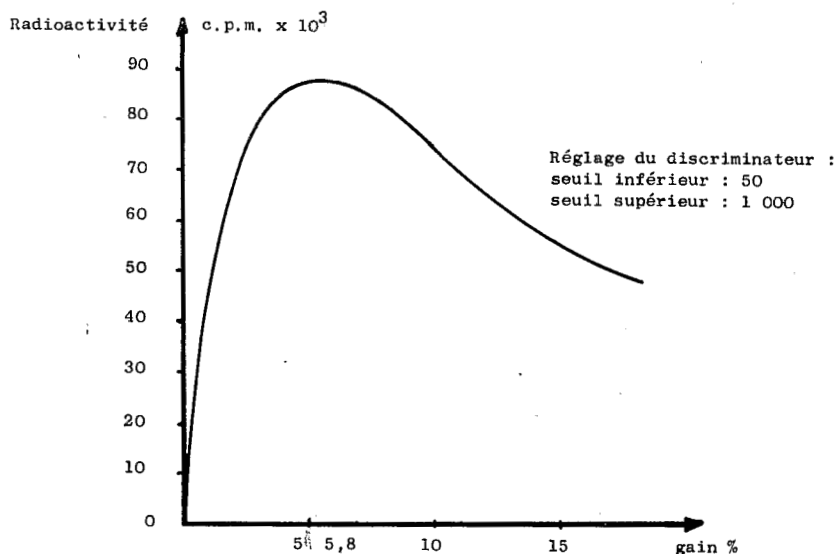


Figure 11 : Variation du taux de comptage en fonction du gain

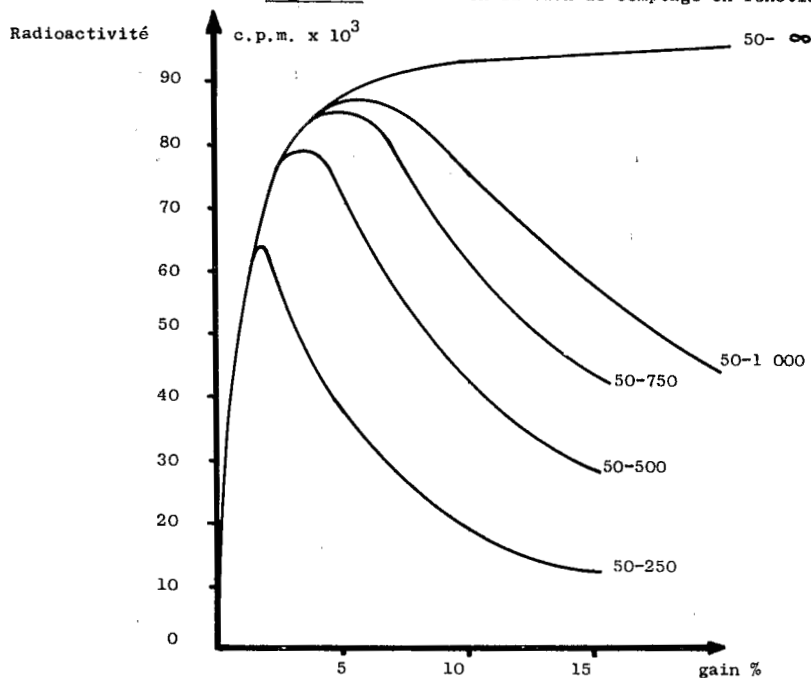


Figure 12 : Variation du taux de comptage en fonction de la fenêtre de comptage et du gain

des intervalles successifs de 20 unités, il est possible de déterminer le spectre d'énergie de l'isotope considéré (fig. 13). En répétant cette opération pour des gains croissants, nous constatons que le spectre est déplacé vers la droite, c'est-à-dire vers les hautes énergies ; inversement, lorsque le gain est réduit, le spectre se déplace vers la gauche.

La combinaison d'un seuil inférieur et supérieur du discriminateur permet d'utiliser le compteur comme spectromètre. Cette propriété est surtout

a) *Bruit de fond* : Les impulsions enregistrées en absence de source radioactive proviennent en majeure partie du bruit de fond des tubes photomultiplicateurs par suite de réchauffement de la cathode ; cet inconvénient est partiellement éliminé par réfrigération. D'autres sources de bruit de fond sont représentées par les radiations cosmiques, la phosphorescence de certains éléments et le potassium 40 présent dans les parois des flacons de verre d'où l'avantage d'utiliser soit des flacons de verre de faible volume à paroi mince ou des flacons de silice,

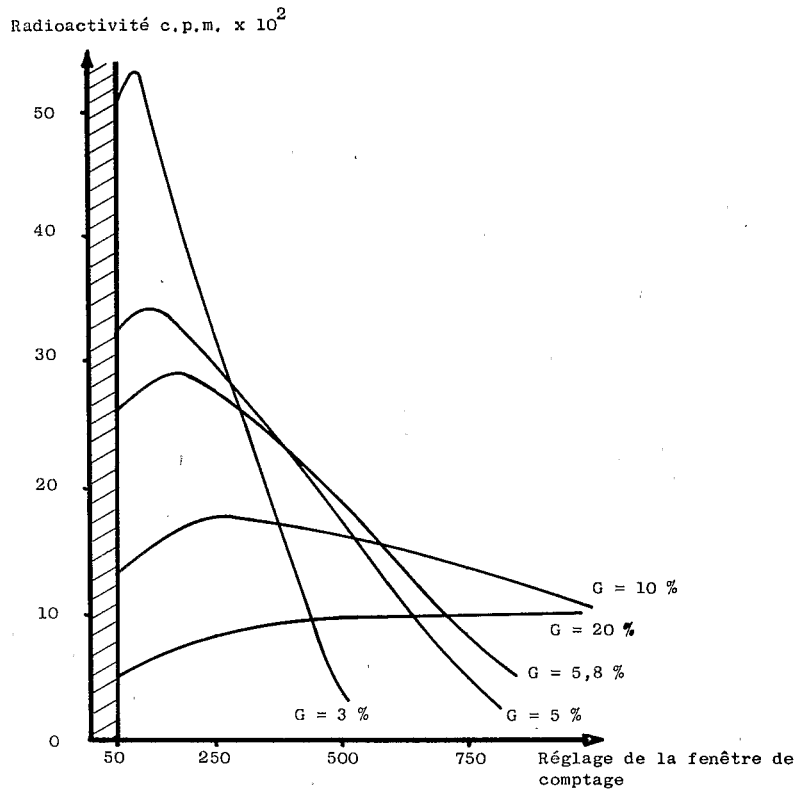


Figure 13 : Spectre d'énergie du ^{14}C en fonction du gain

intéressante lorsqu'il s'agit d'effectuer des comptages en double marquage avec des isotopes présentant des maximum d'énergie différents, tels que le carbone 14 et le tritium.

4) Facteurs influençant le comptage

Les deux facteurs essentiels ayant une action sur le taux de comptage sont le bruit de fond de l'appareil et le phénomène d'extinction de la fluorescence encore appelé « quenching » ou affaiblissement lumineux.

soit des flacons en matière plastique. La phosphorescence étant provoquée par la photo-activation du flacon et du scintillateur qu'il contient par suite d'une exposition à la lumière avant l'introduction dans le compteur, ces photons parasites sont éliminés en partie par le circuit en coïncidence des photomultiplicateurs et d'autre part en évitant d'exposer les échantillons à la lumière.

b) *Quenching* : L'extinction de la fluorescence peut avoir différentes origines. On distingue un quenching de couleur dû à la présence de substances

colorées ou de particules en suspension dans le mélange de scintillation, absorbant une partie de la lumière et un quenching chimique lié à la présence de substances chimiques nuisibles dans l'échantillon à compter ; l'énergie de radiation absorbée qui normalement est réémise sous forme de lumière, est alors dissipée en chaleur par divers processus.

c) *Méthodes de correction du quenching* : Pour compenser les effets défavorables dus à l'extinction partielle de la luminescence, on peut intervenir

— soit par la transformation des solutions colorées en $^{14}\text{CO}_2$ en les oxydant par voie sèche ou par voie humide ; ces méthodes seront examinées dans la deuxième partie de cet article.

— soit par les techniques de standardisation permettant d'évaluer le rendement de comptage d'un échantillon en fonction de son effet de quenching. PENG (1966) a passé en revue les divers procédés de correction du quenching, les techniques utilisées communément sont les suivantes :

- ◆ dilution,
- ◆ rapport des canaux,
- ◆ standardisation interne,
- ◆ standardisation externe.

Méthode de dilution : L'extinction de la fluorescence étant fonction de la concentration de la substance provoquant le phénomène (KERR 1957), une dilution permet d'accroître le rendement ; cette dilution est effectuée jusqu'à obtenir le maximum de c. p. m. En portant le nombre de c. p. m. enregistré pour des dilutions croissantes en fonction de la concentration correspondante, sur papier semi-logarithmique, PENG (1957) obtient une droite qui par extrapolation permet de déterminer le nombre de c. p. m. de l'échantillon en absence de quenching (intersection de la droite avec l'axe des ordonnées). Cette méthode cependant est longue et nécessite de nombreuses manipulations pour une seule détermination.

Méthode du rapport des canaux : Cette technique est basée sur le fait que le quenching provoque un déplacement du spectre vers les basses énergies (voir schéma 14). Après division arbitraire du spectre en deux portions à l'aide du réglage du discriminateur on compte les impulsions correspondant aux deux portions du spectre dans deux canaux différents. Le rapport du nombre de c. p. m. enregistré dans les deux canaux peut servir à évaluer le rendement de comptage de l'un de ces deux canaux.

En effet, ce rapport est constant s'il n'y a pas de quenching, alors que dans le cas d'échantillons présentant un effet d'extinction, le rapport varie et donne un ordre de grandeur du degré d'extinction. Il suffit de construire une courbe standard représentant le rendement de comptage en fonction du rapport des deux canaux pour connaître le rendement de comptage d'un échantillon inconnu par simple lecture sur la courbe. A titre d'exemple, indiquons qu'une telle courbe de corrélation peut être obtenue pour le ^{14}C en préparant une gamme d'échantillons de quenching croissant auxquels on additionne une quantité de ^{14}C connue ; ces échantillons sont comptés simultanément dans deux canaux dont les réglages sont les suivants :

- canal 1 : fenêtre de 50 à 90 - gain 6 %
- canal 2 : fenêtre de 50 à 1.000 - gain 6 %.

La figure 15 représente une telle courbe de corrélation donnant le rendement en fonction du rapport des c. p. m. enregistrés dans ces deux canaux. Cette méthode simple et rapide n'entraîne qu'un seul comptage et ne nécessite aucune manipulation supplémentaire. Les inconvénients majeurs sont les suivants : les échantillons présentant des colorations d'intensité variable donnent des courbes de corrélation différentes d'où la nécessité d'établir une série de courbes ; pour des échantillons à forte extinction ou ayant un taux de comptage assez bas, la méthode n'est pas très appropriée, car il faut des temps de comptage relativement longs pour obtenir une détermination précise du rapport des canaux.

Méthode de standardisation interne : Le quenching peut être corrigé par addition dans les échantillons, préalablement comptés, d'une solution de radioactivité connue et en recomptant ces échantillons une seconde fois. Le calcul du rendement de comptage du standard additionné permet de connaître le degré de quenching de l'échantillon considéré. Les erreurs de pipetage peuvent réduire considérablement l'intérêt de cette méthode qui présente également l'inconvénient de ne pas permettre une réutilisation de l'échantillon par suite de la présence du standard interne.

Méthode de standardisation externe automatique : Cette méthode offre deux variantes : soit l'immersion d'une source radioactive au sein de l'échantillon, soit l'utilisation d'une source externe à l'échantillon. Nous n'examinerons que ce deuxième procédé ; cette technique est basée sur l'emploi d'une source externe telle que le Césium 137, Cobalt 60

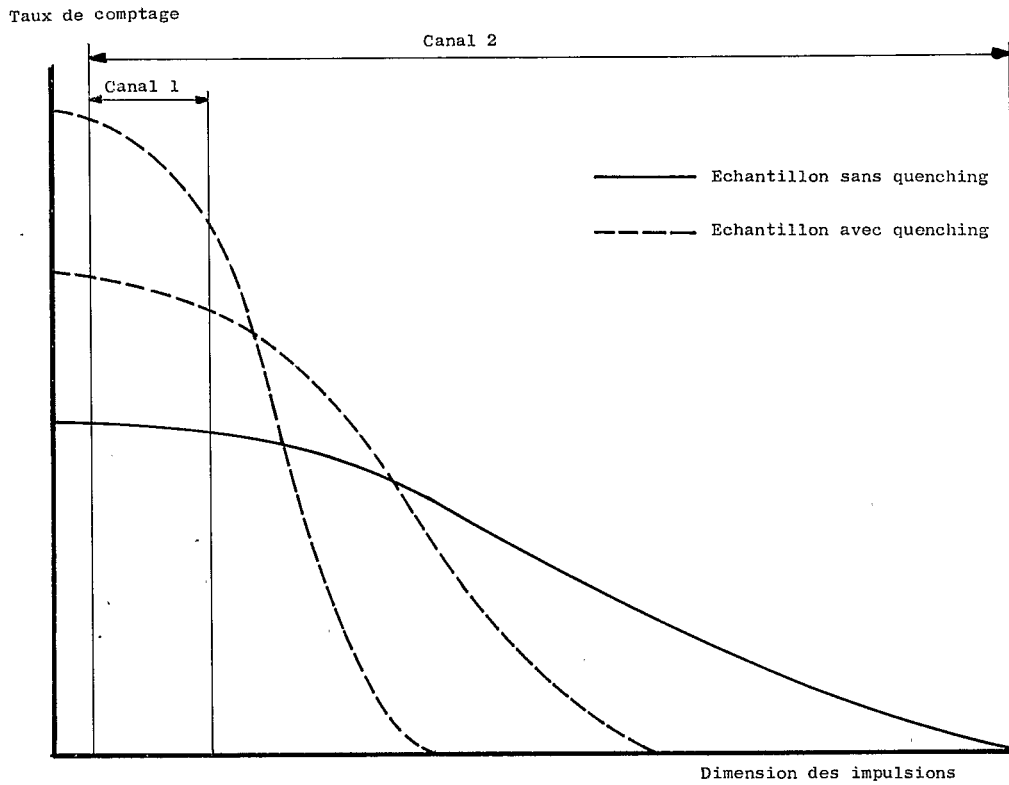


Figure 14 : Déplacement du spectre des échantillons en fonction du quenching (HERBERG, 1965)

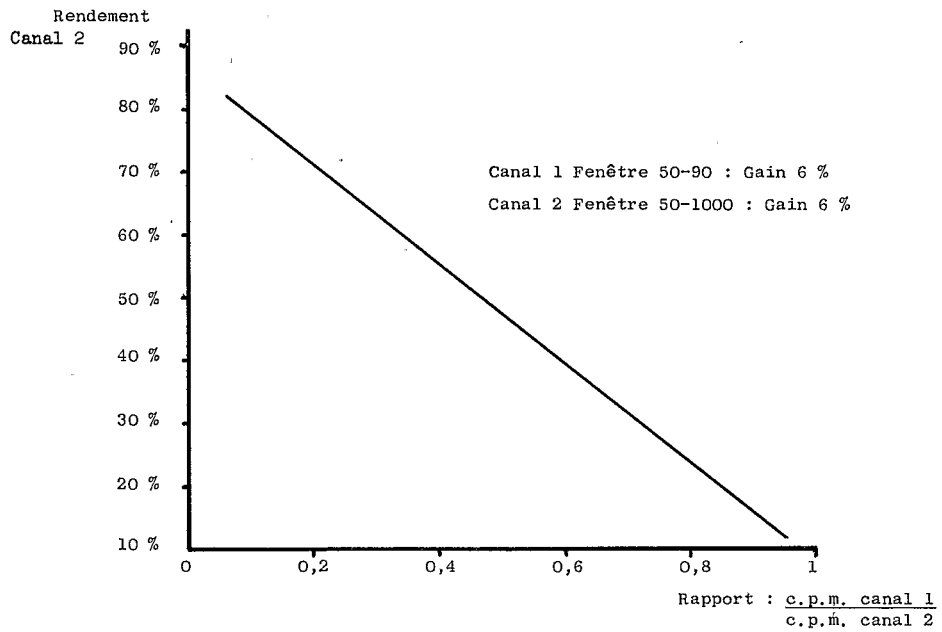


Figure 15 : Courbe d'étalonnage - Méthode du rapport des canaux

ou Radium 226, émettant des rayonnements gamma capables de pénétrer à travers les parois du flacon de comptage et de provoquer la formation d'un spectre d'électrons par effet Compton. Les processus de transfert d'énergie et de production de lumière, induits par le rayonnement gamma au sein du scintillateur sont affectés par les substances à effet de quenching de la même manière que le rayonnement β de l'échantillon lui-même. Donc le nombre de coups enregistré à l'aide du standard externe, pour une portion bien définie de son spectre, rend compte du degré d'extinction de l'échantillon. La correction du quenching pourra s'effectuer dans ce cas à partir du nombre de coups obtenus pour le standard externe, en se référant à une courbe de corrélation donnant les valeurs du rendement de comptage en fonction du nombre de coups du standard externe. En pratique, dans le cas du compteur Tricarb utilisé, une source de Radium 226 est amenée au voisinage de l'échantillon après que celui-ci ait été compté. Un canal de mesure est réservé au standard externe, avec un réglage du discriminateur tel que seules sont enregistrées les impulsions provenant de l'émetteur gamma à l'exclusion de l'échantillon à compter.

Pour obtenir une courbe de corrélation valable, il faut préparer une série d'échantillons de quenching croissant auxquels on additionne une activité connue. Le nombre de coups obtenus à l'aide du standard externe varie considérablement en fonction du volume du scintillateur et en fonction de l'agent de quenching, aussi utilisera-t-on un scintillateur de même composition et un volume de solution identique à celui des échantillons habituels. L'agent de quenching sera également le même que celui rencontré dans les échantillons expérimentaux.

Cette méthode présente des avantages certains :

- pas de risque d'erreurs de pipetage,
- pas d'altération des échantillons par suite de l'introduction d'un standard interne,
- applicable à une gamme étendue de quenching,
- indépendante du nombre de coups de l'échantillon ; des échantillons à faible taux de comptage peuvent être aussi bien calibrés que ceux présentant une forte activité.

La réalisation pratique d'une courbe de standardisation externe est décrite dans la deuxième partie de cette note.

5) Scintillateurs utilisés

Les mélanges de scintillation comportent deux constituants essentiels : le solvant et le ou les solutés. Le mécanisme de scintillation est lié à la présence de ces deux catégories de composés ; le solvant est associé au processus primaire de la scintillation, ce processus se traduisant par un transfert d'énergie de la radiation ionisante au solvant sous forme d'énergie d'excitation ; le processus secondaire réside dans le transfert de cette excitation du solvant au soluté avec émission de lumière fluorescente.

a) *Solvants* : Ainsi que nous venons de le voir, la qualité fondamentale d'un solvant réside dans sa capacité pour capter l'énergie d'une radiation ionisante puis de transférer cette énergie de manière efficiente à un composé fluorescent. Les meilleurs solvants correspondent à des hydrocarbures aromatiques du type alkylbenzène tels que le toluène et le xylène. Certains éthers aromatiques comme le 1-4 dioxane sont également utilisés. Leur efficacité moindre (de 20 à 30 % inférieure à celle du toluène) est compensée par certaines propriétés intéressantes telle leur miscibilité à l'eau. L'addition de naphthalène (FURST et KALLMANN, 1955) améliore le rendement de transfert de cette dernière catégorie de solvants, le naphthalène étant considéré comme un solvant secondaire.

b) *Solutés* : On utilise généralement deux solutés, l'un étant dit primaire et l'autre secondaire. Le soluté primaire accepte l'énergie d'excitation transférée par le solvant et revient à son état initial en émettant un flux de lumière. Ces scintillations sont captées par le soluté secondaire réémettant à son tour une lumière de longueur d'onde plus grande. Le rôle du soluté secondaire est de produire une émission de fluorescence dont la longueur d'onde correspond au maximum de sensibilité des tubes photomultiplicateurs. Il en résulte un meilleur rendement de comptage pour les isotopes de faible énergie.

Un soluté doit présenter les caractéristiques suivantes pour permettre une utilisation satisfaisante dans la pratique :

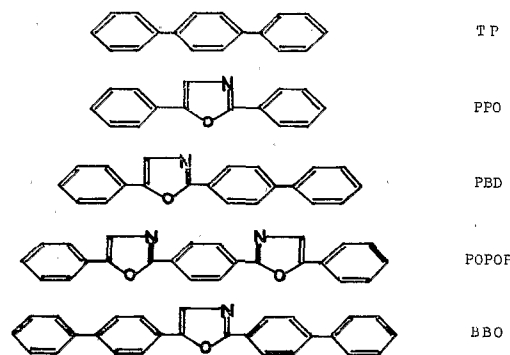
- être un émetteur de fluorescence efficient,
- produire un spectre de photons transmis, réfléchis et transformés en impulsions électriques dans le compteur avec un maximum de rendement,
- présenter une solubilité suffisante dans les solutions de comptage et à la température à laquelle sont effectués les comptages.

De nombreuses substances ont été testées par divers auteurs (KALMANN et FURST 1951, HAYES et *al.* 1955). De même que les solvants, les solutés sont des composés aromatiques ; le paraterphényl (T. P.) fut l'un des premiers utilisés ; il présente une bonne efficacité, mais sa faible solubilité à basse température et en présence d'eau en a forcément limité l'emploi. HAYES et ses collaborateurs (1952, 1955) ont montré que le remplacement de certains groupements phényl par des groupements axazole et 1, 3, 4 oxadiazole dans les chaînes à 4 ou 5 noyaux aromatiques accroissait considérablement la solubilité de ces composés sans affecter leurs propriétés de scintillation. De nombreuses molécules de ce type ont été synthétisées et testées. Les solutés primaires dont l'usage est le plus répandu correspondent au 2,5 diphényloxazole désigné par l'abréviation PPO, et au 2 phényl, 5-(5 biphenylyl) 1, 3, 4, oxadiazole ou PBD, ce dernier présentant cependant l'inconvénient d'un prix de revient élevé.

Un autre composé parfois utilisé comme soluté primaire, malgré qu'il soit classé par sa fluorescence dans les solutés secondaires, est le BBOT ou 2,5 bis [2' (5' tert-butylbenzoxazolyl)]thiophène ; ce scintillateur intéressant car peu sensible au quenching dû à la présence d'O₂ est instable dans les solutions renfermant du dioxane (cf. 2^e partie).

L'utilisation des solutés secondaires est indispensable en présence de solutions présentant une extinction importante ; les plus utilisés sont le POPOP (1,4-di-[2 (5-phényloxazolyl)] benzène et le diméthyl-POPOP, ce dernier présentant une solubilité supérieure et une émission maximum à une longueur d'onde plus grande que le POPOP.

Le di-biphenylyl-oxazole ou BBO est également un soluté secondaire très efficace.



Les proportions des divers composants des mélanges de scintillation varient suivant les auteurs et

suivant le type d'expérimentation. Nous donnerons le détail des essais de plusieurs mélanges dans la seconde partie de ce mémoire.

D. — APPLICATION A L'ÉTUDE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DU SOL

L'étude de la matière organique du sol et de son évolution nécessite des expériences d'incubation en système étanche permettant d'en contrôler tous les facteurs et offrant la possibilité de récupérer tous les produits formés au cours des divers métabolismes ayant leur siège dans le sol. Nous décrirons ci-dessous un dispositif relativement simple qui nous donne entière satisfaction.

I. — PROTOCOLE D'INCUBATION

1) Dispositif expérimental

Le dispositif d'incubation est constitué de 12 unités permettant de traiter simultanément 12 échantillons en double exemplaire (fig. 16). Les unités sont reliées à une pompe pulsante à faible débit qui renouvelle l'atmosphère des Erlenmeyers en deux heures, au moyen d'air privé de gaz carbonique par barbotage dans la soude normale. Par ce procédé, l'air se charge en même temps de vapeur d'eau, évitant ainsi la dessiccation des échantillons de sol. Grâce au réglage de la pression par un système d'allonges régulatrices et de pinces à vis, on obtient un débit gazeux identique au niveau des différents tubes capillaires plongeant dans les flacons barboteurs servant à fixer le CO₂ dégagé par les échantillons de sol. Les Erlenmeyers, fixés sur un châssis mobile verticalement, plongent dans un bain d'eau thermostaté et brassé continuellement par une pompe à circulation. Ce montage présente l'avantage d'éviter les condensations sur les parois internes des pots, phénomène qui se produisait lors des incubations à l'étuve et perturbait plus ou moins l'activité de la microflore du sol.

2) Répartition du carbone après incubation

Les différents échantillons utilisés pour une incubation se répartissent généralement en trois groupes :

— des témoins pour mesurer la respiration endogène,

(fig. 16) SCHEMA DU DISPOSITIF D'INCUBATION

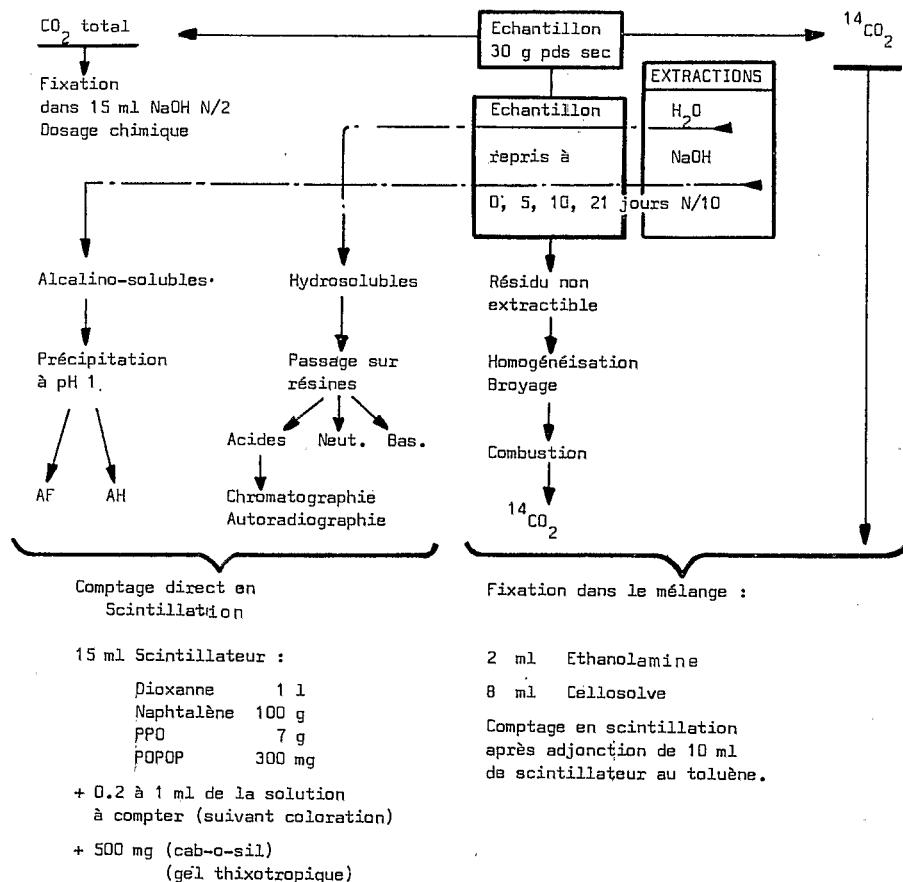
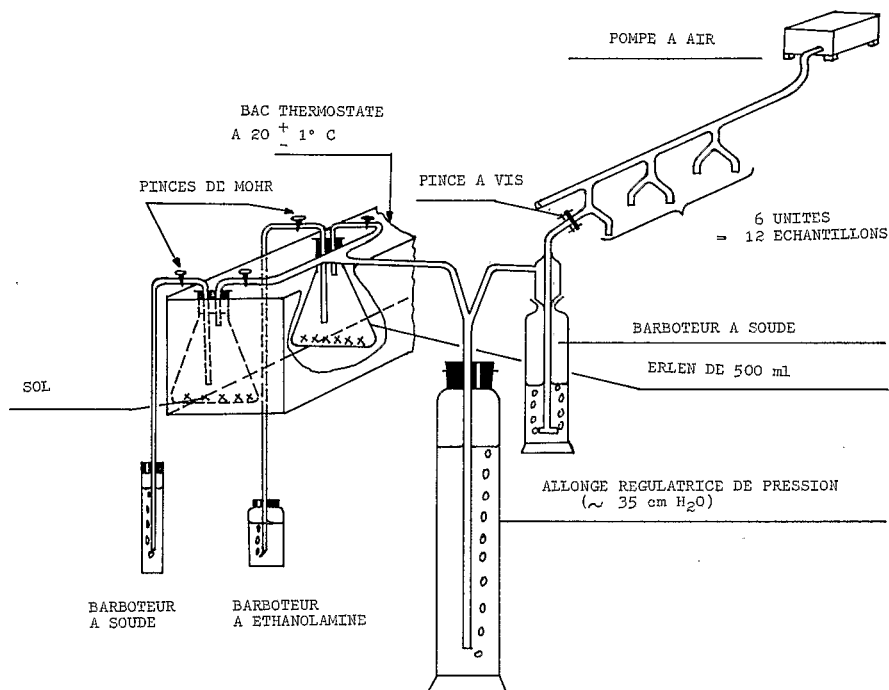


Fig. 17 - Schéma d'une expérience

— des échantillons enrichis en substrat marqué sur lesquels on mesure le dégagement de $^{14}\text{CO}_2$ et de CO_2 total,

— si le matériel marqué au ^{14}C est disponible en quantité relativement faible, des échantillons enrichis en substrat non radioactif peuvent servir à déterminer le CO_2 total dégagé.

Les sols après incubation d'une ou plusieurs semaines sont soumis à divers fonctionnements permettant d'étudier la répartition de la radioactivité au sein de l'échantillon.

A titre d'exemple, nous donnons (fig. 17) le schéma des séparations effectuées après une incubation avec de l'acide citrique ^{14}C .

Le filtre provenant de l'extraction des hydrosolubles est remplacé dans le pot de centrifugeuse contenant le culot, avec 100 ml de soude 0,1 N; une agitation, une centrifugation et une filtration dans les mêmes conditions que précédemment, permettent d'extraire la fraction correspondant aux acides fulviques et humiques séparés par précipitation à pH 1. Le culot contenant l'humine et le filtre, résultant de l'extraction des acides humiques et fulviques, sont placés avec 30 ml d'eau servant au rinçage du pot de centrifugeuse, dans un broyeur à hélice permettant d'homogénéiser le mélange; ce mélange séché sur boîte de Pétri à l'étuve à 40° est réduit dans un broyeur à bille. Par la suite on détermine la radioactivité présente dans ces diverses fractions.

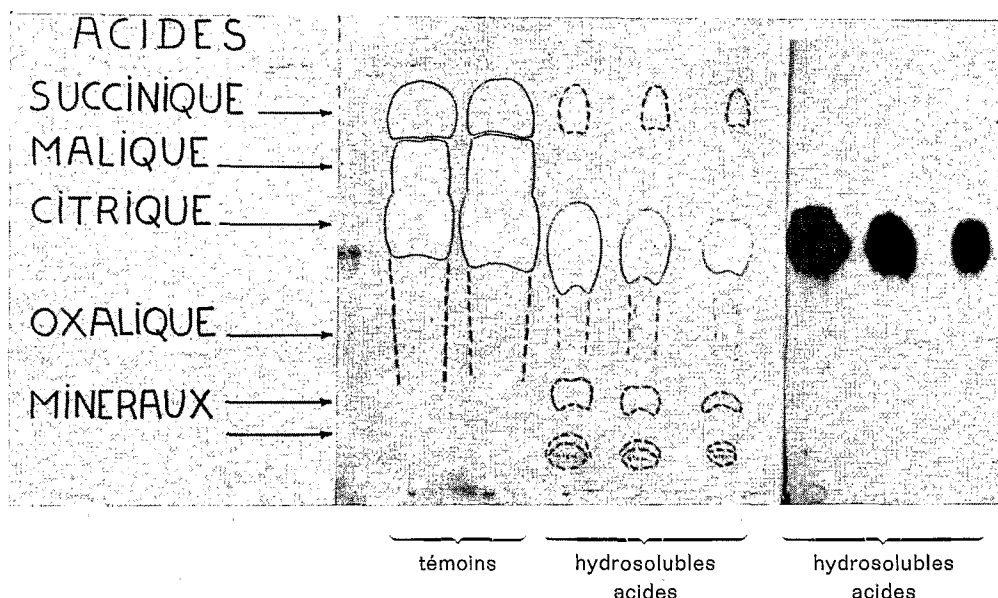


Fig. 18 - Chromatographie et autoradiographie de la fraction hydrosoluble acide

Après incubation, le sol est transvasé dans des pots de centrifugeuse de 250 cm^3 avec 100 ml d'eau distillée servant préalablement au rinçage des Erlenmeyers où s'effectue l'incubation. Une agitation d'une heure à l'agitateur rotatif suivie d'une centrifugation de 30 minutes à 14.000 tours/minute et d'une filtration du surnageant sur filtre rapide sans cendres permettent d'extraire les hydrosolubles, lesquels sont ensuite séparés en constituants acides, basiques et neutres par passage sur résine. Les constituants acides sont alors étudiés par chromatographie et auto-radiographie.

II. — CARACTÉRISATION QUALITATIVE ET MESURE DE LA RADIOACTIVITÉ DANS LES DIFFÉRENTS PRODUITS OBTENUS APRÈS INCUBATION ET FRACTIONNEMENT DE LA MATIÈRE ORGANIQUE

1) Caractérisation qualitative : autoradiographie

Cette méthode sert à caractériser la présence d'une substance radioactive sur un chromatogramme ou un électrophorégramme après dépose et migration. La bande de papier est mise en contact avec un film

radiographique sensible aux rayons bêta, ensuite le film est révélé et fixé. Généralement on obtient une image satisfaisante pour un flux de 10^8 particules bêta par cm^2 , d'où la nécessité de prolonger plus ou moins longtemps l'exposition suivant l'activité de la dépose. Les temps d'exposition utilisés ont varié suivant les cas, de quelques heures à un mois. Les films utilisés sont des films Kodirex, le révélateur et le fixateur sont ceux fournis par la Maison KODAK avec ces films ; toutes les manipulations étant effectuées à la lumière inactinique. Le chromatogramme non révélé est placé au contact du film Kodirex à l'intérieur d'une pochette en papier noir entourée d'une feuille d'aluminium ; les différentes pochettes sont ensuite placées sous une presse pendant toute la durée de l'exposition. Le temps de révélation varie en fonction de la température du bain :

Température du bain	18 °	19 °	20 °	21 °	22 °	23 °	24 °C
Temps de révélation	6'	5,5'	5'	4,5'	4'	3,5'	3'

Après une révélation on lave le film pendant une minute à l'eau courante, on le fixe pendant au moins 8 mn, puis le film est relavé à grande eau et séché.

Cette méthode permet une mise en évidence qualitative de la radioactivité (fig. 18), mais les mesures quantitatives effectuées par les méthodes photométriques sont délicates et peu précises.

2) Mesure de la radioactivité

Les produits obtenus après fractionnement des échantillons incubés peuvent se classer en plusieurs groupes :

- $^{14}\text{CO}_2$ respirométrique,
- produits solubles plus ou moins colorés,
- produits insolubles.

Le comptage du $^{14}\text{CO}_2$ s'effectue par la méthode classique (JEFFAY H. 1961, BAGGIOLINI 1965) consistant à récupérer le CO_2 dans un mélange d'éthanolamine et de cellosolve (2/8 v/v) que l'on additionne ensuite dans un scintillateur à base de toluène.

En ce qui concerne les produits solubles et insolubles, une première possibilité consiste à transformer en $^{14}\text{CO}_2$, par combustion, le carbone contenu dans ces différentes fractions. Le CO_2 ainsi obtenu est fixé puis compté suivant les méthodes utilisées pour le $^{14}\text{CO}_2$ respirométrique. Cette méthode, obligatoire pour les produits insolubles, a le désavantage d'être longue et de demander beaucoup de manipu-

lations. Pour cette raison, nous avons essayé de compter directement les fractions liquides en les additionnant à un mélange de scintillation approprié. Cette méthode, a priori plus rapide, posait cependant deux problèmes importants de quenching : le premier dû au solvant de la fraction à compter (eau ou soude), le second dû à la coloration.

Pour cette raison nous avons été amenés à tester les rendements de différents scintillateurs en fonction des facteurs de quenching.

III. — FIXATION ET DOSAGE DU GAZ CARBONIQUE

Nous étudierons successivement une méthode mixte, permettant de doser le $^{14}\text{CO}_2$ et le CO_2 total

à partir d'un même échantillon, puis une méthode par dosages parallèles nécessitant l'emploi de deux échantillons.

A) Méthode mixte

Elle consiste, ainsi que le préconisent SAUERBECK et FUHR (1966) à recueillir le CO_2 dégagé dans 15 ml de soude N/2 ; 2 ml de la soude carbonatée sont ensuite versés dans un flacon contenant 15 ml de scintillateur au dioxane, les 13 ml restants étant dosés par voie chimique. Cette méthode présente l'avantage d'obtenir, à partir d'un même échantillon, la valeur totale du CO_2 dégagé en même temps que celle du $^{14}\text{CO}_2$. Elle semble toutefois entraîner certaines erreurs ; en effet, les quantités de $^{14}\text{CO}_2$ mesurées sont toujours nettement inférieures à celles obtenues par dosage séparé.

B) Méthode par dosages séparés

— CO_2 total : On fixe le CO_2 total par barbotage dans 15 ml de soude N/5 ; cette solution carbonatée est versée ensuite dans un Erlenmeyer ainsi que les eaux de rinçage. Le CO_2 fixé est alors précipité sous forme de sel de baryum par adjonction de 3 ml de solution de chlorure de baryum à 20 %. On effectue ensuite un dosage en retour au moyen d'acide chlorhydrique N/5. La différence de chute de burette entre l'échantillon mesuré et un témoin est directement proportionnelle au CO_2 dégagé.

— CO_2 marqué : Le CO_2 est récupéré soit dans 10 ml d'un mélange d'éthanolamine et de cellosolve (2/8 v/v) auquel on additoinne ensuite 10 ml de scintillateur au toluène, soit directement dans 20 ml du mélange éthanol-cellosolve-scintillateur au toluène (2/8/10 v/v). La seconde méthode présente l'avantage de permettre un comptage du bruit de fond et une vérification des flacons avant l'utilisation ; elle donne de bons résultats en respirométrie, toutefois, elle est à déconseiller pour les combustions, car le barbotage d'oxygène pur dans ce mélange risque de provoquer des phénomènes de quenching.

IV. — COMBUSTIONS

La détermination de l'activité du ^{14}C présent dans le sol, les culots d'extraction et les extraits fortement colorés nécessitent l'utilisation de techniques d'oxydation pour transformer le carbone en anhydride carbonique. Nous nous sommes adressés aux techniques d'oxydation par voie sèche et avons utilisé deux méthodes différentes :

- la technique de Schöniger,
- le four à combustion (banc de microanalyse JOUAN modifié).

présente sous forme solide, un poids déterminé est placé dans un petit sac constitué d'un papier filtré sans cendres plié ; les échantillons liquides sont déposés sur le même papier, séchés à l'aide d'un ventilateur ou d'une lampe infra-rouge puis adaptés sur la corbeille à combustion.

Avant la combustion on verse de l'éthanolamine additionnée de cellosolve ou de la soude normale, dans l'Erlenmeyer pour assurer la fixation du $^{14}CO_2$. Après avoir insufflé de l'oxygène dans le récipient, on adapte immédiatement sur le col rodé le bouchon portant l'échantillon. L'inflammation du papier et la combustion de l'échantillon sont provoquées par fermeture du circuit électrique. Une demi-heure après la combustion, une fraction aliquote du mélange contenu dans le récipient est transversée dans un flacon de comptage et additionnée de scintillateur avant son passage au Tricarb.

Pour éviter certains inconvénients, tels que les risques d'explosion, nous avons modifié la fiole, comme le préconisent KELLY et al. (1961), en adaptant un ajutage latéral muni d'un robinet, permettant l'introduction du mélange basique après la combustion.

Si la fiole de Schöniger constitue un dispositif peu onéreux et relativement simple d'emploi, il faut

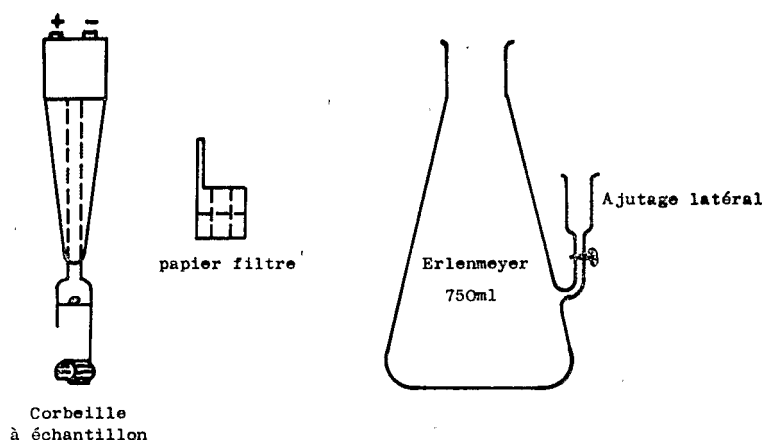


Figure 19 : Fiole de Schöniger

a) Méthode de la fiole de Schöniger (1955) : L'appareil est constitué d'un Erlenmeyer de 750 ml à col rodé sur lequel s'adapte un bouchon portant une corbeille de platine destinée à recevoir les échantillons à brûler (fig. 19). Si l'échantillon se

souligner toutefois que cet appareil ne peut être utilisé que pour la détermination du carbone radioactif ; en effet, une mesure du C total serait entachée d'erreurs par suite de la contribution du carbone issu du sac en papier assurant l'inflammation.

D'autre part, pour les échantillons à l'état liquide, les mesures risquent parfois de manquer de précision en raison de la prise d'essai assez réduite par suite de la nécessité d'effectuer une dépose sur papier filtre. Dans le cas des échantillons solides la combustion peut demeurer parfois incomplète, surtout s'il existe une forte liaison avec une fraction minérale (humine).

Description de l'appareil à combustion (fig. 20) :
 Ce montage comporte trois parties :
 — un dispositif d'alimentation en oxygène,
 — le four à combustion proprement dit,
 — un barboteur du type de ceux utilisés lors des mesures respirométriques pour la récupération du $^{14}\text{CO}_2$.

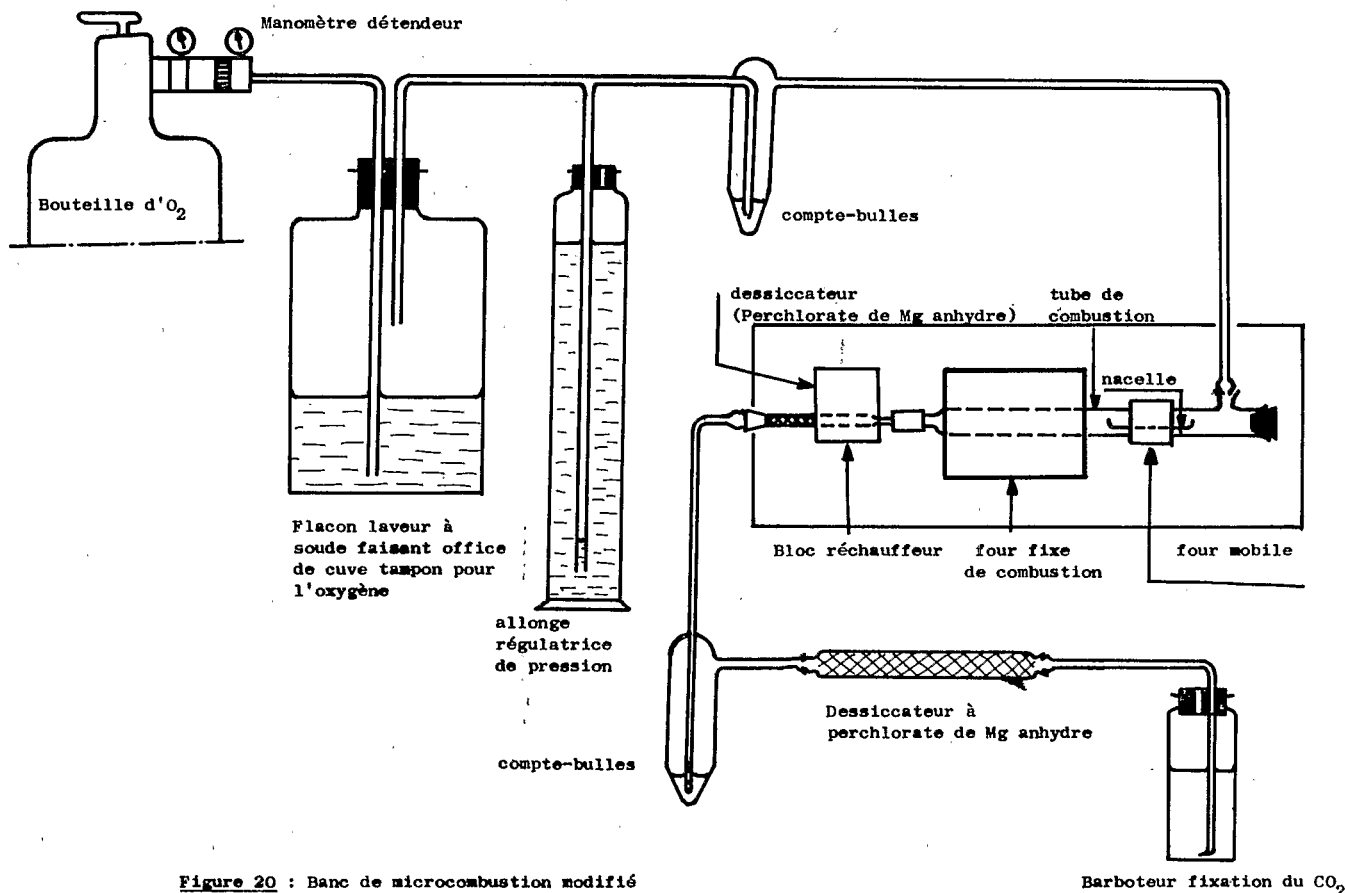


Figure 20 : Banc de microcombustion modifié

b) Banc de microanalyse Jouan modifié

Principe de la méthode : Une partie aliquote de chaque fraction correspondant sensiblement à 10 mg de C est déposée dans une nacelle en platine. Après dessiccation à 40 ° des fractions liquides, la nacelle est placée dans le tube à combustion d'un banc de microanalyse « JOUAN ». Le gaz carbonique résultant de cette combustion vient se fixer dans un flacon barboteur à éthanolamine, du même type que ceux utilisés lors des mesures respirométriques.

Le dispositif d'alimentation comprend : une bouteille d'O₂, un flacon laveur à soude faisant office de cuve tampon pour l'oxygène, une allonge régulatrice de pression et un ensemble de deux compte-bulles situés de part et d'autre du four. Le banc de combustion est essentiellement constitué d'un tube à combustion en silice, d'un four mobile se déplaçant au niveau de la nacelle de platine, et d'un four fixe assurant la transformation totale des produits obtenus lors de la combustion dans le four

mobile. Le garnissage du tube de silice, schématisé par la figure 21 permet une oxydation complète du carbone (oxyde de cuivre) et une fixation des halogènes (laine d'argent). Le mélange gazeux sortant du tube à combustion est débarrassé de sa vapeur d'eau par un dessiccateur.

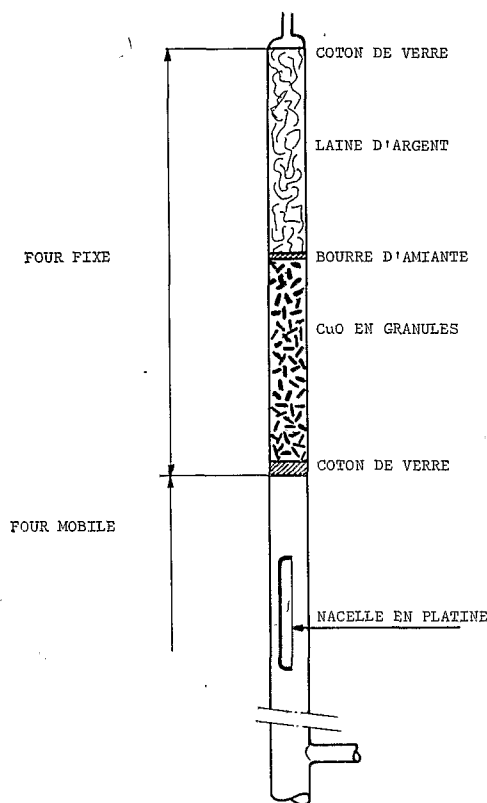


FIGURE 21 : SCHEMA DE REMPLISSAGE DU TUBE DE COMBUSTION

Réalisation des combustions : Après avoir réglé le débit d'oxygène (2 bulles à la seconde environ) le banc de microanalyse est mis en fonctionnement ; le four mobile s'arrêtant automatiquement à la fin de la combustion ; cette dernière terminée, on purge l'appareil pendant cinq minutes au moyen d'un courant d'oxygène plus important.

Résultats : Le rendement de l'appareil a été testé en effectuant la combustion de quantités déterminées de carbone élémentaire, de glucose et d'acide citrique. Les rendements obtenus pour une série de 30 combustions correspondant à un rendement moyen de 96,6 % avec des valeurs extrêmes variant de 92,6 % à 98 %.

III. — ASPECTS PRATIQUES DU COMPTAGE EN SCINTILLATION LIQUIDE

Un des problèmes pratiques posés par le comptage en scintillation liquide réside dans le choix d'un mélange de scintillation ; ce choix influe directement sur le rendement de l'appareil et se fait essentiellement en fonction de l'état physique et de la nature chimique des échantillons à compter. Suivant que les échantillons se présentent sous forme liquide ou solide les comptages s'effectuent sous forme de solution ou de suspension. Une difficulté majeure résulte du comptage des solutions aqueuses ; ces dernières provoquant un effet de quenching important nécessitent des mélanges de scintillation présentant une certaine tolérance et une miscibilité à l'eau. Dans ce cas, il faut remplacer le toluène non miscible par du dioxane.

Pour effectuer le comptage de produits solides ou pour assurer une suspension plus uniforme de certains produits liquides on additionne au scintillateur un gel thixotropique du type Cab-O-Sil (OTT et al. 1959, SAUERBECK et FUHR 1966) ; ce produit à base de silice, fluide après agitation, gélifie au repos. Dans une première série d'expériences nous avons testé différents mélanges de scintillation, avec ou sans addition de Cab-O-Sil, en fonction du quenching chimique et du quenching de coloration occasionnés par les différents produits rencontrés au cours d'études portant sur l'évolution de la matière organique dans le sol. Dans une deuxième série d'expériences nous avons étudié les différents facteurs autre que le quenching influençant le rendement de comptage.

L'ensemble des résultats obtenus nous a permis de sélectionner les mélanges de scintillation adéquats et d'établir pour ces derniers des courbes d'étalonnage permettant la correction du quenching par la méthode de standardisation externe.

1) Composition des mélanges de scintillation testés lors des diverses expériences :

Formule I :

PPO	4 g
Diméthyl POPOP	200 mg
Naphtalène	60 g
Méthanol	100 ml
Ethylène glycol	20 ml
Dioxane	q.s.p. 1 litre

Formule II :

PPO	7 g
Diméthyl POPOP	300 mg
Naphtalène	100 g
Dioxane	1 litre

Formule III :

BBOT	4 g
Naphtalène	80 g
Méthyl cellosolve	400 ml
Toluène	600 ml

Formule IV :

PPO	5 g
Diméthyl POPOP	300 mg
Toluène	1 litre

Formule V :

Pour fixer et doser le $^{14}\text{CO}_2$ on réalise le mélange suivant :

- scintillateur IV : 10 ml
- éthanolamine : 2 ml
- éther monoéthylique de l'éthylène glycol (cellosolve) : 8 ml.

2) Testage des mélanges de scintillation en fonction du quenching :

a) Quenching chimique :

Nous avons étudié l'influence d'additions d'eau, de solutions de soude N, N/2, N/5 et de Cab-O-Sil sur l'intensité du quenching. La distribution des traitements est donnée par le tableau 1. L'étude a porté uniquement sur les mélanges de scintillation I, II, III ; les formules IV et V ne supportant pratiquement pas l'addition d'eau.

TABLEAU I : Répartition des traitements pour l'étude du quenching chimique - (scintillateurs I, II, III).

Agent de quenching	Volumes d'agent de quenching additionné (ml)	Cab-O-Sil
Eau	1-2-3-4	Néant
Soude N ..	1-2-3-4	
Soude N/2 .	1-2-3-4	
Soude N/5 .	1-2-3-4	
Soude N ..	1-2-3-4	500 mg par flacon
Soude N/2 .	1-2-3-4	
Soude N/5 .	1-2-3-4	

Les possibilités d'utilisation pratique d'un mélange de scintillation doivent tenir compte de différents facteurs : le rendement de comptage du mélange, l'état du scintillateur après adjonction d'une substance à compter et la stabilité dans le temps du mélange. Nous avons rejeté systématiquement tous les flacons présentant la moindre hétérogénéité de phase et, après adjonction de Cab-O-Sil, ceux présentant une prise en masse du gel au fond du flacon. Par contre, nous avons considéré comme valables les flacons dont l'homogénéité reste durable pendant plusieurs heures et pour lesquels l'état d'équilibre obtenu après un repos de deux jours se traduit par la présence d'un gel occupant plus des 7/8 du volume total.

TABLEAU II : Etat des scintillateurs maintenus deux jours à 0° après adjonction de substances à effet de quenching chimique.

Agent de quenching	Scintillateur I	Scintillateur II	Scintillateur III
Néant	normal homogène	pris en masse (gel)	normal homogène
Eau	normal homogène	normal homogène	deux phases
Soude N	deux phases	deux phases	deux phases
Soude N/2	2 phases pour 1 et 2 ml	deux phases	deux phases
	homogène pour 3 et 4 ml		
Soude N/5	homogène	deux phases	deux phases
Soude N + gel	1/3	3/4	2/3
Soude N/2 + gel	1/3 pour 1 et 2 ml	homogène 7/8	2/3
	3/4 pour 3 et 4 ml		
Soude N/5 + gel	3/4	homogène 7/8	3/4

* La présence d'une seule indication signifie que le résultat est identique après adjonction de 1, 2, 3 et 4 ml de solution à effet de quenching.

* Les rapports indiquent une précipitation du gel et le volume approximativement occupé par la phase gélifiée.

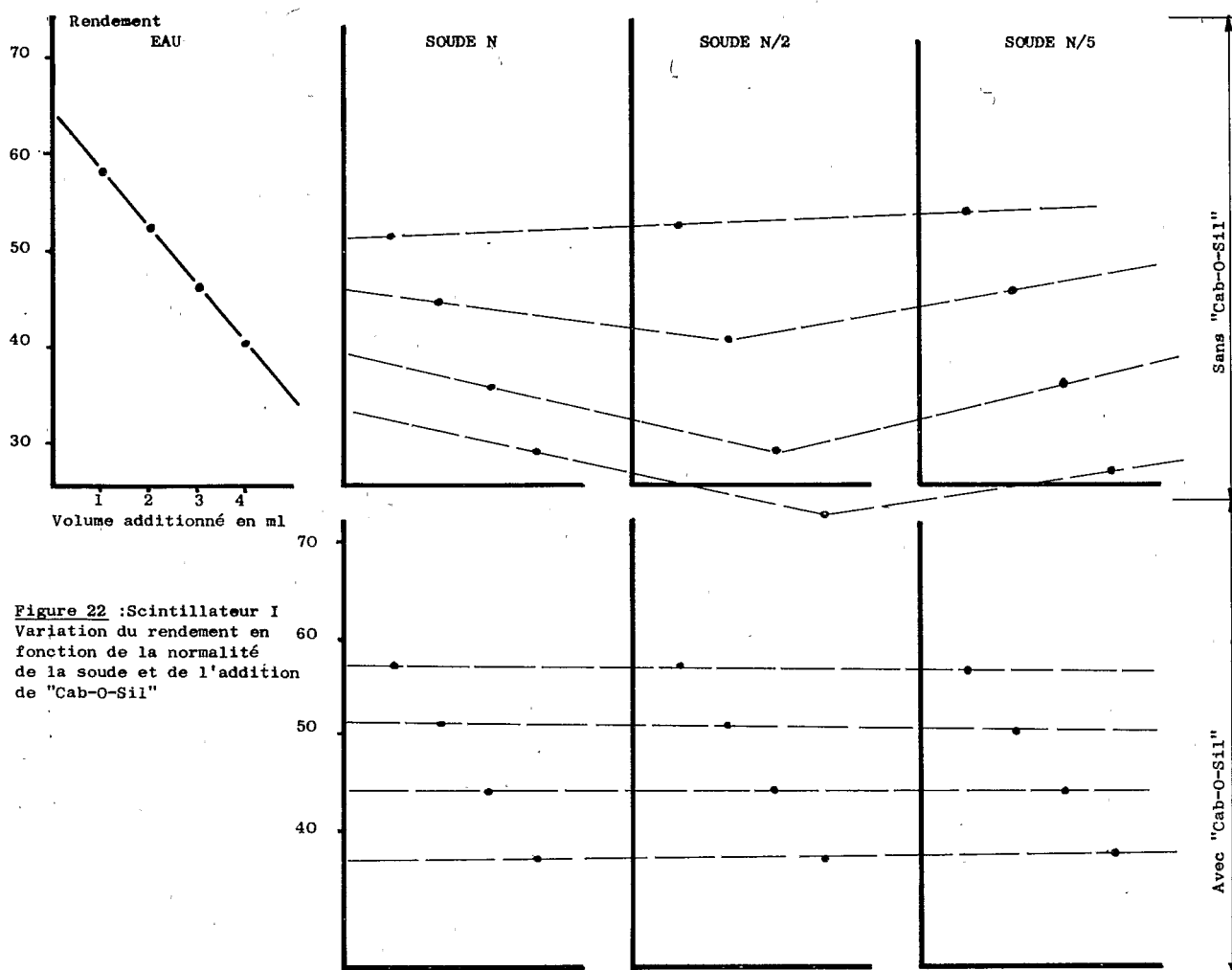
Le tableau II regroupant les indications concernant l'état des scintillateurs fait ressortir les faits suivants : le scintillateur III est à rejeter systématiquement en raison de son hétérogénéité de phase ; si les scintillateurs I et II tolèrent bien une addition d'eau, seul le scintillateur I supporte l'adjonction de soude sans Cab-O-Sil et ceci uniquement pour la soude N/5 ; enfin, si en présence de Cab-O-Sil le scintillateur II tolère jusqu'à 4 ml de soude N/2 et N/5, la soude normale doit être rejetée dans tous les cas.

La représentation graphique de l'efficacité de comptage (fig. 22 et 23) montre que le scintillateur II présente les meilleurs rendements et que l'adjonction de Cab-O-Sil améliore encore les résultats ; en outre, ce gel diminue fortement l'influence de la normalité de la solution alcaline.

Ces résultats, malgré quelques variations techniques présentent une grande analogie avec ceux obtenus par SAUERBECK et FUHR (1966), à savoir la nette supériorité du scintillateur II en présence de Cab-O-Sil. Ce mélange de scintillation présente toutefois l'inconvénient de se prendre en masse au-dessous de 2 °C en absence de solution aqueuse.

b) *Quenching de coloration :*

Pour étudier l'influence de la coloration nous avons utilisé des dilutions successives d'un extrait sodique (0,1 N) de Bh de podzol. Dans chaque flacon d'une série contenant 15 ml de scintillateur II, 500 mg de Cab-O-Sil et une radioactivité correspondant à 1.005.700 d.p.m. on introduit 1 ml de solution humique plus ou moins concentrée.



Les résultats, représentés graphiquement à la fig. 24 montrent une diminution importante du taux de comptage avec la coloration, aussi bien pour le ^{14}C que pour le standard externe, (source de radium). On voit donc que l'on a intérêt, soit à diluer les solutions colorées, soit à introduire de très faibles quantités de ces solutions dans le scintillateur, tout en maintenant dans l'échantillon une activité suffisante pour obtenir un taux de comptage précis. En ce qui concerne nos expériences, nous avons toujours travaillé avec un minimum de c.p.m. supérieur à 20 fois le bruit de fond.

Toutefois, une autre possibilité pour le comptage de solutions très colorées réside dans la transformation du ^{14}C en $^{14}\text{CO}_2$ par combustion.

3) Autres facteurs influant sur le rendement du comptage :

Hormis la présence de composés provoquant des phénomènes de quenching, d'autres facteurs interfèrent sur le taux de comptage. Nous étudierons successivement le rôle de la température, du temps de comptage, du volume du scintillateur utilisé et de la nature du flacon de comptage.

a) *Influence de la température* : Quinze flacons, contenant 18 ml de scintillateur II additionnés de 500 mg de Cab-O-Sil, initialement à la température ambiante sont placés dans le compteur dont l'enceinte réfrigérée présente une température voisine de 0 °C. On effectue 12 passages au compteur à une

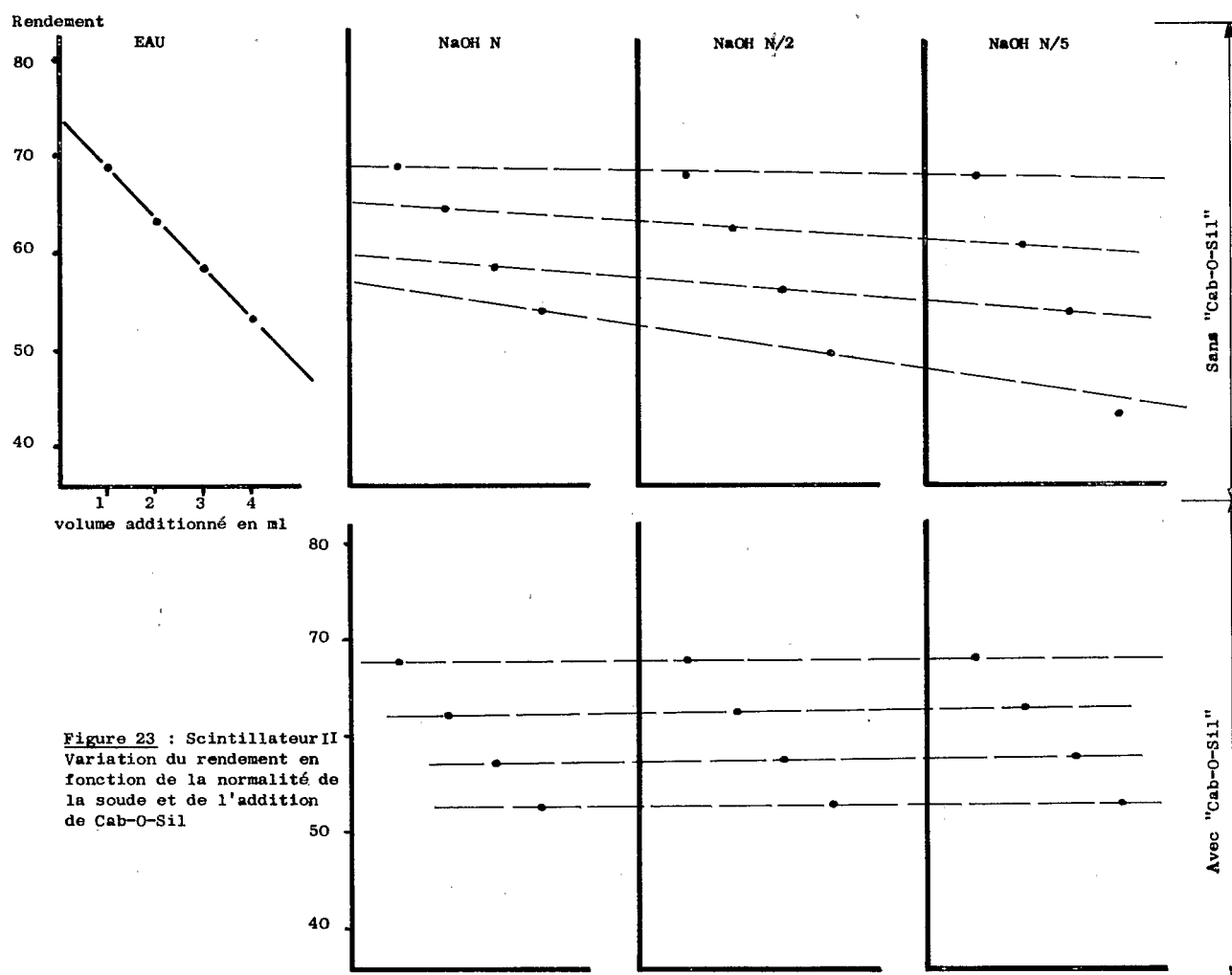


Figure 23 : Scintillateur II
Variation du rendement en fonction de la normalité de la soude et de l'addition de Cab-O-Sil

heure et demie d'intervalle. A chaque passage, on calcule pour les 15 flacons les moyennes des c.p.m. enregistrés à partir du standard externe (fig. 25).

Nous notons une baisse très rapide du taux de comptage en fonction du temps de séjour dans l'enceinte réfrigérée. Ces résultats montrent qu'il est nécessaire, soit de placer les flacons à l'intérieur de l'appareil au moins 10 heures avant d'effectuer les

portante, le délai de mise en équilibre thermique avant le comptage correspond à un même ordre de grandeur.

b) *Influence du temps* : Deux expériences ont permis d'étudier le facteur temps : la première sans adjonction d'éléments marqués, la seconde après addition de glucose radioactif aux scintillateurs I, II et III. Pour les différents tests, les mesures sont

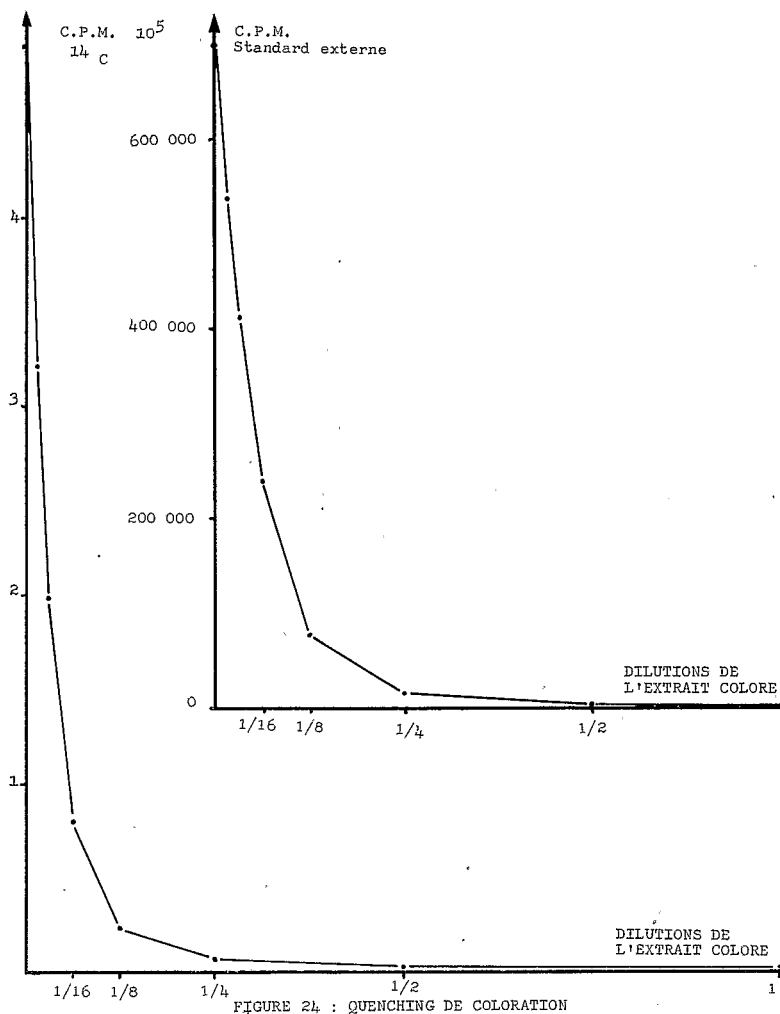


FIGURE 24 : QUENCHING DE COLORATION

comptages, soit de les conserver au réfrigérateur à une température identique.

Des expériences effectuées avec les autres mélanges de scintillation montrent que malgré une variation des c.p.m. du standard externe moins im-

effectuées pendant six jours à une journée d'intervalle. Les variations de rendement évaluées à l'aide du standard externe sont pratiquement négligeables et ne dépassent jamais 2,5 % dans les deux expériences.

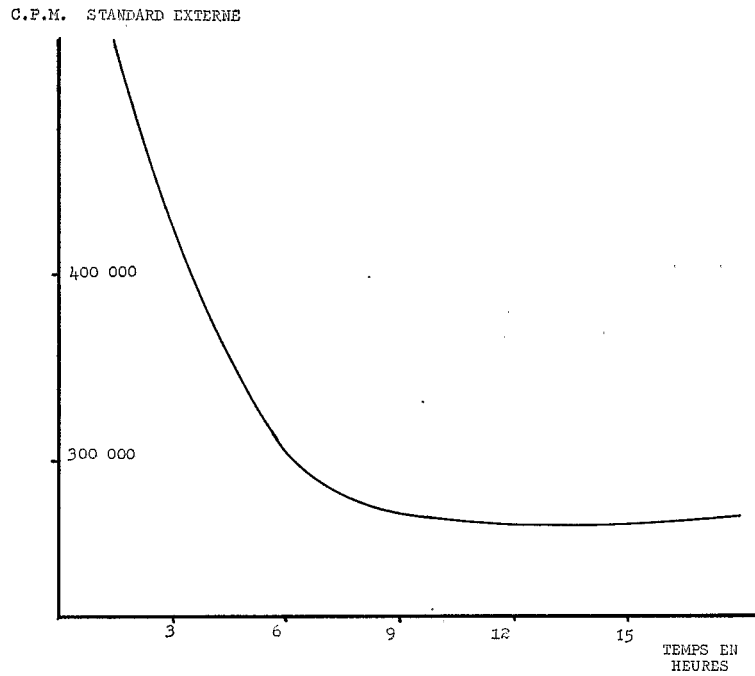


FIGURE 25 : INFLUENCE DU TEMPS DE RETROIDISSEMENT SUR LE TAUX DE COMPTAGE DU STANDARD EXTERNE (SCINTILLATEUR II)

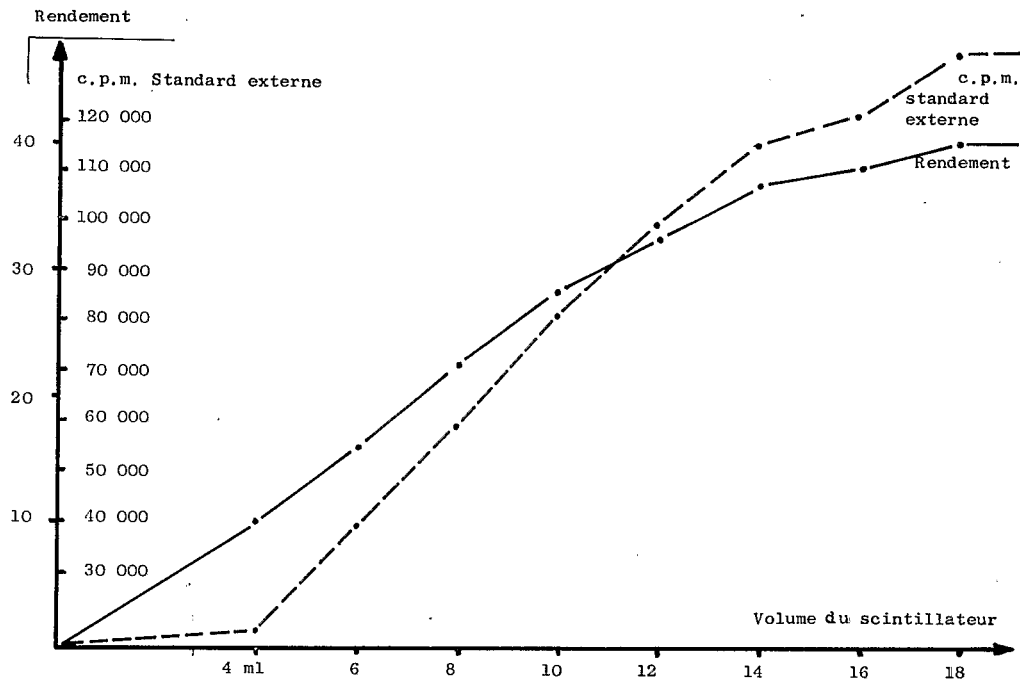


Figure 26 : Influence du volume du scintillateur utilisé

A titre indicatif, nous donnons au tableau III, une moyenne des différents rendements obtenus pour chaque scintillateur additionné d'eau ou de soude pendant les dix jours de mesure.

TABEAU III : Stabilité des mélanges de scintillation en fonction du temps.

Scintillateur	jours					
	1	2	3	4	5	6
I	57,08	57,21	57,37	57,51	57,73	57,75
II	60,87	60,87	60,52	60,45	60,84	60,83
III	41,93	42,48	43,15	42,54	42,92	43,45

Ces résultats montrent qu'il est possible d'effectuer des comptages pratiquement reproductibles pendant six jours à partir de la préparation d'un flacon conservé à 0°.

c) *Influence du volume utilisé* (fig. 26) : On effectue des comptages sur des volumes croissants d'un mélange homogène d'éthanolamine, cellosolve, scintillateur au toluène (2/8/10/v/v) ayant servi à fixer du $^{14}\text{CO}_2$.

En ce qui concerne les c.p.m. mesurés à partir du standard externe on constate une augmentation importante des valeurs obtenues en fonction du volume de scintillateur utilisé.

Ces résultats montrent que si l'on désire obtenir la valeur du rendement au moyen du standard externe, il convient de réaliser une courbe d'étalonnage à un volume donné et de garder ce volume constant lorsque l'on effectue des mesures sur des échantillons expérimentaux.

d) *Comparaison entre les flacons en verre et les flacons en plastique* : Plusieurs facteurs entrent en ligne de compte : les rendements obtenus, la possibilité de décontamination et donc de réemploi, enfin le prix de revient.

En ce qui concerne les rendements, nous avons effectué des mesures portant sur des mélanges de scintillation I, II et III avec quatre répétitions pour chaque type de flacon. Les résultats montrent une augmentation de rendement de 2 % environ lorsqu'on utilise des flacons en plastique.

Pour de fortes activités de l'échantillon, le verre est plus facile à décontaminer, toutefois, pour

des c.p.m. de l'ordre de 50.000 ou inférieurs, la décontamination du plastique donne de bons résultats.

e) *Courbes d'étalonnage des mélanges de scintillation par la méthode de standardisation externe* : Une série de flacons contenant du scintillateur additionné d'une activité connue apportée par du fructose ^{14}C étalonné (laboratoire de métrologie du CEA) sont placés au compteur après adjonction de 500 ml de Cab-O-Sil et de diverses substances présentant un quenching croissant. Ces dernières sont celles susceptibles d'être introduites dans les mélanges de scintillation après incubation et fractionnement des échantillons de sol. Pour chaque flacon, on enregistre les c.p.m. correspondant au ^{14}C et les impulsions dues au standard externe. En calculant le rendement effectif du comptage à l'aide de l'activité connue introduite, une courbe de corrélation entre ce rendement et la valeur du standard externe peut être tracée. Nous avons effectué cette étude sur les deux formules de scintillateur retenues lors des études préliminaires (II et V).

1°) *Courbe d'étalonnage obtenue avec la formule II* :

Ce mélange essentiellement destiné au comptage des extraits résultant du fractionnement de la matière organique du sol est utilisé à raison de 15 ml par flacon additionnés de 500 mg de Cab-O-Sil. Les agents de quenching correspondent aux solutions suivantes :

- Eau : 0,5 ; 1 ; 2 ml
- Soude N/10 : 0,5 ; 1 ml
- Soude N/2 : 0,5 ; 1 ; 2 ml
- Pyrophosphate de sodium à 1 % : 0,5 ; 1 ml
- « Extrait soude » : 0,5 et 1 ml des dilutions 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 de la solution initiale
- « Extrait pyrophosphate » : 0,5 et 1 ml des dilutions 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128 de la solution initiale.
- « Acides fulviques, soude » : 0,5 et 1 ml dilution 1/2
- « Acides fulviques, pyrophosphate » : 0,5 et 1 ml dilution 1/2.

Les « extraits soude » et « extraits pyrophosphate » représentent le résultat de l'extraction de 5 g de l'horizon Bh d'un podzol humo-ferrugineux par respectivement, 100 ml de pyrophosphate de

sodium à 1 % et 100 ml de NaOH N/10 selon la méthode DUCHAUFOR-JACQUIN (1966). Les solutions « acides fulviques, soude » et « acides fulviques, pyrophosphate » sont obtenues à partir des extraits précédents en acidifiant à pH 1 et en séparant les acides humiques par centrifugation.

Le tableau IV donne les rendements de comptage en fonction des volumes croissants d'eau, de soude, et de pyrophosphate de sodium additionnés au scintillateur. L'effet le plus dépressif sur le rendement apparaît en présence de solution sodique.

TABLEAU IV : Influence des agents d'extraction.

Agent de quenching	Volume ajouté		
	0,5 ml	1 ml	2 ml
Eau	72,9 *	70,4	64,5
Soude N/2	67,0	66,4	61,9
Pyrophosphate 1 %	72,7	69,0	—

* Rendement de comptage en %.

Dans le cas des extraits de sol, initialement très colorés, le tableau V montre que le quenching diminue au fur et à mesure des dilutions successives et qu'un pourcentage acceptable est atteint à partir de la dilution 1/8.

TABLEAU V : Influence de la coloration des extraits.

Extraits et volume ajouté	Dilution						
	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Extrait soude 0,5 ml	56,2 *	60,9	66,8	69,9	71,5	72,3	72,9
Extrait soude 1 ml	41,6	48,7	58,0	62,6	67,3	68,3	70,4
Extrait pyrophosphate 0,5 ..	49,6	60,1	66,7	69,8	71,7	72,1	72,9
Extrait pyrophosphate 1 ml	32,2	47,7	57,7	63,6	67,2	68,7	70,4

* Rendement de comptage en %.

L'incidence des solutions d'acides fulviques, sur le rendement est montrée par le tableau VI. Leur densité optique étant relativement faible, les dilutions nécessaires pour obtenir un rendement acceptable sont moins importantes que dans le cas précédent.

TABLEAU VI : Influence des acides fulviques.

Agent de quenching	Dilution	
	1/1	1/2
A.F. extrait soude 0,5 ml ..	60,7 *	66,5
A.F. extrait soude 1 ml	46,1	57,4
A.F. extrait pyrophosphate 0,5 ml	39,7	64,7
A.F. extrait pyrophosphate 1 ml	43,5	55,6

* Rendement de comptage en %.

2°) Courbe d'étalonnage obtenue avec la formule V :

Ce mélange étant utilisé pour le comptage du CO₂ respirométrique ou issu des combustions, les agents de quenching sont donc l'oxygène et l'eau :

- oxygène : le contenu des flacons est soumis à un barbotage pendant 5, 10, 15, 20 minutes ;
- eau : addition de 0,1 ; 0,2 ; 0,5 ; 1 ml.

L'effet de quenching dû à la présence d'O₂ dans le mélange de scintillation résumé par le tableau VIII montre une diminution de rendement en fonction de la durée de barbotage. Les chiffres du ta-

bleau VIII traduisent nettement l'effet dépressif, sur le rendement, de l'addition d'eau au scintillateur IV. Par comparaison avec les valeurs obtenues pour le scintillateur II, à base de dioxane (tableau IV) nous constatons la faible tolérance à l'eau du scintillateur IV, à base de toluène.

TABLEAU VII : Influence de l'oxygène.

Temps	5'	10'	15'	20'
Rendement ...	45,9 *	43,9	43,6	41,5

* Rendement de comptage en %.

TABLEAU VIII : Influence de l'eau.

Volume d'eau additionné	0,2	0,5	1
Rendement	53,6 *	53,2	49,3

* Rendement de comptage en %.

L'ensemble de ces résultats a permis de tracer les courbes d'étalonnage des scintillateurs II et IV reproduites sur la figure 27.

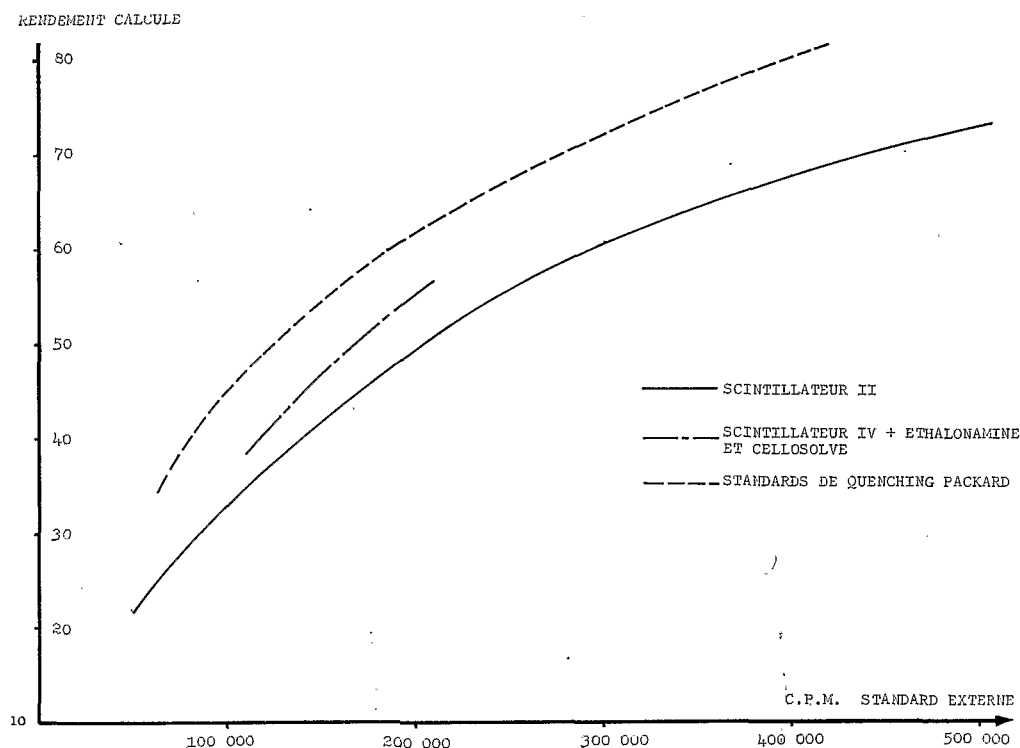


FIGURE 27 : COURBES D'ETALONNAGE - METHODE DU STANDARD EXTERNE

A ces deux courbes obtenues dans les conditions propres à notre expérimentation nous avons joint celle réalisée à partir des standards de quenching fournis par la firme Packard.

A noter que la courbe correspondant au mélange V s'étend sur une échelle nettement plus ré-

duite que les deux autres courbes. Ceci est dû au fait que l'éthanolamine contenue dans le mélange provoque déjà un quenching qui situe le rendement à une valeur inférieure à 55 % avant adjonction de toute autre substance.

Grâce à ces courbes d'étalonnage, les bilans de ^{14}C lors de nos expériences d'incubation de sol ont pu être équilibrés. Il est important de souligner que ces courbes ne sont valables que pour un mélange de scintillation donné et dans des conditions de comptage constantes (température, volume, fenêtre, gain), comme le signalent également HAYES (1966) et SCHRODT et al.

E. — CONCLUSION

Comme nous l'avons déjà mentionné au début de cet article, l'utilisation du ^{14}C se révèle extrême-

ment intéressante et prometteuse dans les recherches portant sur un matériau aussi complexe que les composés organiques des sols.

Les mesures de la radioactivité présente dans les divers constituants de cette matière organique peuvent être réalisées à l'aide de compteurs Geiger-

Müller classiques et de compteurs à circulation gazeuse ; ce dernier matériel donnant un meilleur rendement, paraît plus adapté à la mesure des isotopes à faible énergie comme le ^{14}C . Ces divers appareils ne présentent pas de difficultés particulières d'utilisation et ne nécessitent pas d'investissements trop onéreux. Cependant, leur emploi est limité dans certains cas, du fait de leur manque de sensibilité ; ce point nous paraît important à souligner car, par suite d'incubations prolongées (végétaux marqués) ou de fractionnements répétés, l'activité résiduelle de la matière organique du sol peut devenir très basse.

Dans le cas de faibles activités, il est préférable d'effectuer les mesures à l'aide d'un compteur à scintillation liquide ; le rendement nettement supérieur de ces compteurs augmente considérablement la précision des mesures.

Certes, l'utilisation de la scintillation en milieu liquide pose des problèmes, essentiellement liés au phénomène d'extinction de la fluorescence (quenching), cependant, ces difficultés peuvent être aisément résolues par la mise en œuvre de différentes techniques de standardisation et l'obtention de courbes d'étalonnage permettant de corriger les rendements de comptage en fonction du quenching des échantillons. La standardisation externe automatique s'avère extrêmement utile à condition d'établir une courbe d'étalonnage pour chaque mélange de scintillation utilisé et en se plaçant dans des

conditions identiques à celles de l'expérience (volume, température, substances de quenching).

Un problème particulier, lié au comptage des substances très colorées (composés humiques) ou des substrats solides (sol et résidus non extractibles) apparaît au cours des investigations portant sur la matière organique du sol. Dans ces cas, il est indispensable de transformer le ^{14}C présent dans les échantillons en $^{14}\text{CO}_2$ par combustion.

La mise au point de l'ensemble de ces techniques nous a permis de réaliser des études très précises concernant des problèmes fondamentaux tels que :

— Décomposition et minéralisation de substrats organiques marqués et leur interaction éventuelle avec la matière organique stable préexistante du sol.

— Evolution des produits résiduels ou de néoformation et leur répartition au sein des différentes fractions humiques.

— Localisation, analyse qualitative et quantitative de certains composés simples du sol, par autoradiographie de chromatogrammes et électrophorogrammes.

Des problèmes plus agronomiques, tels que l'étude des composés organiques responsables de la stabilité structurale du sol ont pu être également abordés grâce à l'utilisation des méthodes radioisotopiques.

BIBLIOGRAPHIE

- APELGOT (S.) - 1957. — Méthode de mesure propre au radio-carbone 14. *J. Phys. Rad.* - suppl. n° 7, **18**, 78 A - 89 A.
- APELGOT (S.) - 1965. — Mesure de la radioactivité par scintillation en milieu liquide : applications biologiques. Presses acad. europ. Bruxelles, 18 p.
- BAGGIOLINI (M.) - 1965. — Eine einfache Technik für die Absorption von $^{14}\text{CO}_2$ und dessen direkte Messung im Flüssigkeitsszintillationszähler. *Experientia*, Bâle, **12**, 731-733.
- BAXTER (C.F.), SENONER (I.) - 1963. — Liquid scintillation counting of ^{14}C -labelled amino acids on paper, using trinitrobenzene-I-sulfonic acid, and a modified combustion apparatus. *Anal. Biochem.*, **7**, 55-61.
- BAXTER (J.A.), FANNING (L.E.), SWARTZ (H.A.) - 1964. — Liquid scintillation solvent systems : water content and related counting efficiencies. *Intern. J. of Appl. Radiation and Isotopes*, **15**, 415-418.
- BIRKS (J.B.) - 1964. — The theory and practise of scintillation counting. Pergamon Press New York, Reprinted 1967.
- BLANC (D.) - 1959. — Détecteurs de particules (compteurs et scintillateurs). Mécanisme et réalisation. Masson et Cie, Paris.
- BRAY (G.A.) - 1960. — A simple efficient liquid scintillator for counting aqueous solutions in a liquid scintillation counter. *Anal. Biochem.*, **1**, 279-285.
- CALVIN (M.), HEIDELBERGER (C.), REID (J.), TOLBERT (B.), VANKWICH (P.) - 1949. — Isotopic Carbon. John Wiley and Sons, New York.
- CHAHAL (K.S.), MORTENSEN (J.L.), HIMES (F.L.) - 1966. — Decomposition products of carbon-14 labelled rye tissue in a peat profile. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, **30**, (2), 217-220.

- CHEKALOV (K.I.), ILLUVIEVA (V.P.) - 1962. — Application of the radioactive ^{14}C in the study of organic matter decomposition in the soil - *Pochvovedenie*, **5**, 40-50.
- CONWAY (W.D.), GRACE (A.J.) - 1964. — Liquid scintillation counting errors due to oxygen quenching of samples prepared by the oxygen flask combustion procedure. *J. Anal. Chem.*, **9**, 487-489.
- DAVIDSON (F.D.), FEIGELSON (P.) - 1957. — Practical aspects of internal sample liquid scintillation counting. *Intern. J. Appl. Rad. and Isotopes*, **2**, 1.
- DUCHAUFOUR (Ph.), JACQUIN (F.) - 1966. — Nouvelles recherches sur l'extraction et le fractionnement des composés humiques. *Bull. Ecole Nat. Sup. Agron. Nancy, VIII* (1), 3-24.
- FLAIG (W.), HAIDER (K.) - 1965. — Anwendung der Isotopen zur Untersuchung der organischen Bodensubstanz. *Landbauforschung Völknerode*, **15** (1), 21-24.
- FREYTAG (H.E.) - 1962. — Über die Zersetzung von pflanzlichem Material im Boden und einige Erfahrungen in der Messung von $^{14}\text{CO}_2$ mit einer Gas-Zählkammer. *Albrecht Thaer-Archiv*, **10**, 685-697.
- FREYTAG (H.E.), IGEL (H.) - 1964. — Ein Bericht über den Einsatz des ^{14}C bei respirometrischen Messungen in der Humusforschung. *Zbl. Bakteriol. Parasitenk. Infektionskrankh. Abt.* **11**, 117, 525-531.
- FREYTAG (H.E.), IGEL (H.) - 1968. — Mineralisierung und Humifizierung von applizierter Glukose und Rückwirkung auf die Zersetzung der organischen Bodensubstanz in den Proben einiger Parzellen der Dauer-versuche « Halle » und « Thyrow ». I Mitteilung: Zersetzungsverlauf Glukosekohlenstoffverwertung und humifizierung. *Albrecht Thaer Archiv*, **12**, 4, 327-340.
- FURST (M.), KALLMANN (H.) - 1955. — Enhancement of fluorescence in solutions under high-energy irradiation. *Phys. Rev.* **97**, 583.
- GOSWAMI (N.N.), DATTA (N.P.) - 1961. — Techniques in use of ^{14}C as a tracer in the study of soil organic matter. *J. of the Indian Soc. of soil sci.*, **9**, 2.
- HALL (T.C.), COCKING (E.C.) - 1964. — High efficiency liquid scintillation counting of ^{14}C labelled material in aqueous solution and determination of specific activity of labelled proteins. *Biochem. J.*, **96**, 626.
- HAYES (F.N.), HIEBERT (R.D.), SCHUCH (R.L.) - 1952. — Low energy counting with a new liquid scintillation solute. *Science*, **116**, 140.
- HAYES (F.N.), OTT (D.G.), KERR (V.N.), ROGERS (B.S.) - 1955. — Pulse height comparison of primary solute. *Nucleonics*, **13**, 12, 38.
- HAYES (F.N.) - 1963. — Solutes and solvents for liquid scintillation counting. *Packard techn. bull.*, **1**.
- HAYES (F.N.) - 1964. — Quench monitoring and efficiency calibration through external standardization - Advances in tracer methodology, **3**, 95-106 (Proceedings of the 9th and 10th Symposia on Tracer methodology 1964-1965). Plenum Press, New York, 1966.
- HERBERG (R.J.) - 1965. — Channels ration method of quench correction in liquid scintillation counting. *Packard Technical bull.* **15**.
- JEFFAY (H.), ALVAREZ (J.) - 1961. — Liquid scintillation counting of carbon-14. Use of Ethanolamine-Ethylene Glycol Monomethyl Ether-Toluene. *Anal. Chem.*, **33**, 612-615.
- JEFFAY (H.) - 1962. — Oxidation techniques for preparation of liquid scintillation samples. *Packard techn. bull.*, **10**.
- JENKINSON (D.S.) - 1960. — Scintillation counting of carbon-14. *Nature London*, **186**, 613-614.
- JENKINSON (D.S.) - 1963. — Experimental techniques for using carbon-14 in studies of soil organic matter. The use of isotopes in soil organic matter studies. Report of the FAO/IAEA Technical Meeting. Brunswick-Völknerode, 9-14 september 1963.
- JENKINSON (D.S.) - 1965. — Studies on the decomposition of plant material in soil. I. Losses of carbon from ^{14}C labelled rye grass incubated with soil in the field. *J. Soil Sci. G.B.*, **16**, 1, 104-115.
- KALBERER (F.), RUTSCHMAN (J.) - 1961. — Eine Schnellmethode zu Bestimmung von Tritium, Radiokohlenstoff und Radioschwefel in beliegigem organischem Probenmaterial mittels des Flüssigkeits-Scintillations-Zählers. *Helv. Chim. Acta*, **44**, 1956.
- KALLMANN (H.), FURST (M.) - 1951. — Fluorescent liquids for scintillation counting. *Nucleonics*, **8**, 3, 32.
- KALLMANN (H.), FURST (M.) - 1957. — The basic processes occurring in the liquid scintillator. Liquid scintillation counting, Proceedings of a conference held at Northwestern University, Pergamon Press, 3-22.
- KELLY (R.G.), PEETS (E.A.), GORDON (S.), BUYSKE (D.A.) - 1961. — Determination of ^{14}C and ^3H in biological sample by Schöniger combustion and liquid scintillation techniques. *Anal. Biochem.* **2**, 267-273.
- KERR (V.N.), HAYES (F.N.), OTT (D.G.) - 1957. — Liquid scintillators - III. The quenching of liquid scintillator solutions by organic compounds. *Intern. J. Appl. Radiation and Isotopes*, **1**, 284.
- LEFORT (M.) - 1963. — Les radiations nucléaires - « Que sais-je ? ». Presses Universitaires de France.
- MAYAUDON (J.), SIMONART (P.) - 1958. — Etude de la décomposition de la matière organique dans le sol au moyen de carbone radioactif - I. Cinétique de l'oxydation en CO_2 de divers substrats radioactifs. *Plant and Soil*, **9**, 367-375.
- MAYAUDON (J.), SIMONART (P.) - 1958. — Etude de la décomposition de la matière organique dans le sol au moyen de carbone radioactif - II. Décomposition du glucose radioactif dans le sol. Répartition de la radioactivité dans les fractions humiques du sol. *Plant and Soil*, **9**, 375-380.
- MAYAUDON (J.), SIMONART (P.) - 1959. — Etude de la décomposition de la matière organique dans le sol au moyen de carbone radioactif - III. Décomposition des substances solubles dialysables des protéines et des hémicelluloses. *Plant and Soil*, **11**, 170-175.
- OBERLANDER (H.E.), ROTH (K.) - 1968. — Transformation of ^{14}C labelled plant material in soils under field conditions - Symposium on the use of isotopes and radiation in soil organic matter studies, Vienna.
- OTT (D.G.), RICHMOND (C.R.), TRUJILLO (T.T.), FOREMAN (H.) - 1959. — Cab-O-Sil suspensions for liquid scintillation counting. *Nucleonics*, New York, **17**, 106-108.
- PACKARD (L.E.) - 1957. — Instrumentation for internal sample liquid scintillation counting. Liquid scintillation counting. Proceedings of a conference held at Northwestern University. Pergamon Press.

- PAGE (A.L.), SIMS (J.R.), BINGHAM (F.T.) - 1964. — Emploi de la scintillation liquide pour l'essai du carbone 14 dans les suspensions d'argile ou de sol. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, **28** (3), 359-363.
- PASSMANN (J.M.), RADIN (N.S.), COOPER (J.A.D.) - 1956. — Liquid scintillation technique for measuring carbon-14 dioxide activity. *Anal. Chem.*, **28**, 484.
- PENG (C.T.) - 1957. — Liquid scintillation counting of some sulfur-35 labelled organic compounds. *Liquids scintillation counting. Proceedings of a conference held at Northwestern University*. Pergamon Press, 198-204.
- PENG (C.T.) - 1964. — Quenching correction in liquid scintillation counting. *Advances in tracer methodology*, **3**, 81-94. (Proceedings of the 9th and 10th symposia on tracer methodology, 1964-1965. Plenum Press New York, 1966.
- RAPKIN (E.) - 1962. — Measurement of $^{14}\text{CO}_2$ by scintillation techniques. *Packard techn. bull.*, **7**.
- RAPKIN (E.) - 1963. — The determination of radioactivity in aqueous solutions. *Packard techn. bull.*, **6**.
- RAPKIN (E.) - 1963. — Liquid scintillation measurement of radioactivity in heterogeneous systems. *Packard techn. bull.*, **5**.
- RIBEREAU-GAYON (G.) - 1964. — Méthodes et techniques d'étude du métabolisme des limbes et des baies de *Vitis vinifera* L. utilisant les molécules marquées par le carbone 14. Résultats préliminaires. Thèse Fac. Sci. Univ. Bordeaux.
- ROCCHICCIOLI - 1964. — Les isotopes - « Que sais-je ? ». Presses Universitaires de France.
- ROGERS (A.W.) - 1969. *Techniques of autoradiography*. Elsevier Publ. Cy.
- SAUERBECK (D.) - 1968. — Stability of recently formed humus compound in soil. *Symposium on the use of isotopes and radiation in soil organic matter studies*, Vienna.
- SAUERBECK (D.), FUHR (F.) - 1966. — Routineverfahren zur empfindlichen Messung der Menge und der Radioaktivität von ^{14}C . *Zeits. Landwirts. Forschung*, **20**, Sonderheft. Stand und Leistung agrikulturchemischer und agrarbiologischer Forsch. XIII, 75-84.
- SAUERBECK (D.), FUHR (F.) - 1968. — Alkali extraction and fractionation of labelled plant material before and after decomposition. A contribution to technical problems in humification studies. *Symposium on the use of isotopes and radiation in soil organic matter studies*, Vienna.
- SCHÖNIGER (W.) - 1955. — Eine microanalytische Schnellbestimmung von Halogen in Organischen Substanzen. *Mikro chim. Acta*, **1**, 123-129.
- SCHRAM (E.), LOMBAERT (R.) - 1963. — *Organic scintillation detectors counting of low energy beta emitters*. Elsevier Publ. Cy.
- SHARPE (J.), TAYLOR (D.) - 1958. — *Mesure et détection des rayonnements nucléaires*. Dunod, Paris.
- SIMONART (P.), MAYAUDON (J.) - 1963. — Etude des transformations de la matière organique du sol au moyen du carbone-14. The use of isotopes in soil organic matter studies. Report of the FAO/IAEA technical meeting Brunswick-Völkenrode, 9-14/9/1963, 245-269.
- SÖRENSEN (H.) - 1963. — Studies on the decomposition of ^{14}C labelled barley straw in soil. *Soil Sci. USA*, **95** (1), 45-51.
- SMITH (G.N.), LUDWIG (P.D.), WRIGHT (K.C.), BAURIEDEL (W.R.) - 1964. — Simple apparatus for combustion of samples containing ^{14}C labelled pesticides for residue analysis. *J. Agric. Food Chem.* **12**, (2), 172-175.
- SMITH (A.H.), REED (G.W.) - 1965. — The standardization of a liquid scintillation system. *Radioisotop sample measurement techniques in Medicine and Biology - IAEA, Vienna*.
- SNYDER (F.), GODFREY (P.) - 1961. — Collecting $^{14}\text{CO}_2$ in a warburg flask for subsequent scintillation counting. *J. of lipid research*, **2**, (2), 195.
- SCHRODT (A.G.), GIBBS (J.A.), CAVANAUGH (R.E.) - Quench correction by automatic external standardization. *Packard Instr. Cy.*
- TURNER (J.C.) - 1967. — Sample preparation for liquid scintillation counting. *Review 6. The radiochemical Center, Amersham, England*.
- WERBIN (H.), CHAIKOFF (I.L.), IMADA (M.R.) - 1959. — Rapid sensitive method for determining H^3 water in body fluids by liquid scintillation spectrometry. *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, **102**, 8-12.
- ZELLER (A.), OBERLANDER (H.E.), HIEMER (F.) - 1963. — A growth chamber for raising carbon-14 labelled plants. The use of isotopes in soil organic matter studies. Report of the FAO/IAEA technical meeting Brunswick-Völkenrode, 401-413.
- Chemical Notes Packard. — A summary of current practices in sample preparation for liquid scintillation counting.
- Laboratory training manual on the use of isotopes and radiation in soil-plant relations research. IAEA, Vienna, 1964.

CONTRIBUTION A L'UTILISATION
DES TECHNIQUES RADIOISOTOPIQUES
POUR L'ÉTUDE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE DU SOL

par

A. GUCKERT, P. ROGER et F. JACQUIN

imprimerie gilbert - champenoux

29 DEC. 1969

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

n° 315802, eet.