

Л. Ф. Суходуб

Институт прикладной физики НАН Украины, Сумы

ПРИМЕНЕНИЕ УСКОРИТЕЛЬНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ В ЭКОЛОГИЧЕСКИХ И МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ



Рассмотрены принципы ускорительной масс-спектрометрии (УМС), развитие техники УМС, особенности пробоподготовки и использование УМС для датирования с помощью радиоизотопа ^{14}C , для исследования различных экологических объектов и медико-биологических исследований с использованием радиоизотопов. Проведено сравнение УМС с другими аналитическими методами.

Ключевые слова: ускорительная масс-спектрометрия, экология, медицина, окружающая среда, датирование, изотоп ^{14}C .

В результате применения ускорителей для масс-спектрометрического анализа возникло новое направление в исследованиях, названное *ускорительная масс-спектрометрия (УМС)*. Начало было положено *Л. Альварезом* в Беркли при случайном открытии ^3He как естественного изотопа гелия с использованием циклотрона (1939 г.). Эти эксперименты сразу указали на уникальные возможности УМС: измерять содержание чрезвычайно редких изотопов, что недоступно для традиционной масс-спектрометрии в принципе. Спустя много лет, сотрудник *Л. Альвареза Р. Мюллер* продемонстрировал возможности УМС для регистрации таких редких изотопов, как ^{10}Be ($1,5 \times 10^6$ л), ^{14}C (5730 л) и ^{26}Al ($7,1 \times 10^5$ л). Параллельно с использованием циклотронов для УМС проводились успешные попытки применения тандемных ускорителей для тех же целей и, прежде всего, для детектирования радиоизотопа ^{14}C . Двумя группами в университетах Гамильтона и Рочестера было продемонстрировано,

что с помощью УМС радиоизотоп ^{14}C действительно может быть измерен на уровне природного изотопного отношения $^{14}\text{C}/^{12}\text{C} = 10^{-12}$. Отсутствие определенных отрицательных ионов (^{14}N) явилось большим преимуществом тандемных ускорителей по сравнению с ускорителями, работающими только с положительно заряженными ионами. Также стало очевидным то, что сравнительно небольшие тандемные ускорители являются наиболее приемлемыми для УМС, в частности для измерений ^{14}C . Пионерские усилия в этом направлении принадлежат *К. Персеру*.

1. ПРИНЦИПЫ УСКОРИТЕЛЬНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Ускорительная масс-спектрометрия — это ядерно-физический метод регистрации долгоживущих радиоизотопов путем прямого счета атомов, а не их продуктов распада после их сепарации в магнитных полях. Метод позволяет получать точную информацию об изотопном составе образцов миллиграммового и микрограммового веса. Технология УМС включает

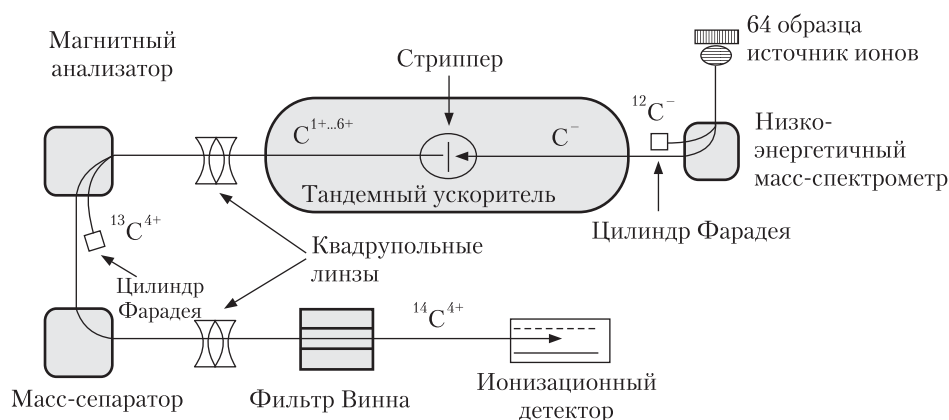


Рис. 1. Схема построения ускорительного масс-спектрометра

(рис. 1): цезиевый (как правило) источник ионов для получения отрицательно заряженных атомных и молекулярных ионов; инжектор ионов; тандемный ускоритель (1 — секция для отрицательных ионов, 2 — для положительных ионов, включая стриппер электронов между ними); систему анализа положительных ионов для «очистки» ионного пучка; ионизирующий детектор для счета ионов.

Применение больших энергий (1 МэВ и выше) позволяет использовать различные другие эффекты для сепарации элементов и изотопов. Так, применение источника отрицательных ионов решает проблему изобар, отделение молекулярных помех происходит на стадии перезарядки с подбором зарядовых состояний (+3 и выше) и, наконец, дополнительная селекция по энергии и величине ионизационных потерь частицы происходит в детекторе. Измерения ведутся относительно стандартного образца. Кроме того, измеряется и образец, не содержащий радиоизотопа, чтобы учесть экспериментальный фон прибора. Типичное время одного измерения составляет от минуты до нескольких минут. При работе с ^{14}C исследуемый образец конвертируется в графит, который заряжается в источник отрицательных ионов. Во время процедуры графитизации необходим постоянный контроль возможного изотопного фракционирования образца. Также

параллельно с неизвестными образцами переработке подвергаются контрольные образцы, не содержащие радиоуглерода для учета возможного малого загрязнения радиоуглеродом в химических реакциях. Точность измерения содержания ^{14}C в образцах в УМС составляет 0,5–1 % (бывает и лучше), что приблизительно соответствует точности радиометрических методов. Однако область применений последних значительно уже за счет потребности в заметно большей массе образца. Например, в рутинных измерениях для радиометрического метода требуется порядка 10^5 л воды, тогда как для УМС достаточно всего несколько сот миллилитров [1]. Приведенные факты указывают на то, что чувствительность УМС по сравнению с методикой бета-счета в миллион раз выше. Это впечатляющее преимущество технологии УМС усовершенствовало эксперименты по датированию с использованием ^{14}C , т.к. теперь стало возможным исследовать образцы в тысячу раз меньше по массе при расходовании времени на эксперимент в сотни раз меньше. Преимущество УМС еще более ощутимо при исследовании радиоизотопов с большими периодами полураспада ($t_{1/2}$), для которых распады трудно наблюдать. Фактически, существуют радиоизотопы, такие, как ^{41}Ca ($t_{1/2} = 1,04 \times 10^5$), которые не были вообще детектированы на природных уровнях ($^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca} = 10^{-14} - 10^{-15}$)

до появления УМС. Измерение изотопных отношений на подобных уровнях возможно при наличии в методе большого динамического диапазона для изотопных измерений. Такая возможность открылась с появлением УМС-технологии, т.к. обильные стабильные изотопы (например, ^{12}C , ^{13}C) детектируются ячейками Фарадея (рис. 1), тогда как редкие изотопы (^{14}C) — ионизационными (твердотельными или газовыми) детекторами. Для демонстрации селективности, необходимой для измерения изотопных отношений в интервале 10^{-12} — 10^{-15} , приведем любопытное сравнение, сделанное одним из студентов лаборатории профессора В. Кучеры (университет Вены, Австрия). Если взять средний дом площадью 100 м^2 и высотой 10 м , то получим объем в $1\ 000\text{ м}^3$. Наполняя этот объем снизу доверху сахаром с размером кристаллов 1 мм^3 , мы сможем вместить 10^{12} кристалликов. Так вот, измерение одного радиоизотопа ^{14}C современного органического углерода с помощью УМС сравнимо с поиском одного сахарного кристаллика другой массы в доме, полностью заполненном сахаром.

2. РАЗВИТИЕ ТЕХНИКИ УМС

2.1. Ускорители

Метод УМС возник благодаря использованию циклотрона и тандемных ускорителей, доступных в ядерно-физических лабораториях. Однако вскоре выяснилось, что эксперименты по датированию с использованием ^{14}C нуждаются в высокой точности при измерении изотопных отношений, для того чтобы конкурировать по точности с методикой δ -распада. Существующие в ядерной физике тандемные ускорители были созданы не для масс-спектрометрии с требуемой точностью (5 %) в регистрации $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$. Кроме того, эти устройства были неоправданно большими с выходными напряжениями 8 — 10 МВ . Поэтому были предложены сравнительно небольшие тандемные УМС-установки с меньшим напряжением (2 — 3 МВ), возможности которых были впервые доложены на 3-й конференции по УМС в

1984 г. [1]. Малые машины были основаны на так называемой *Cockroft–Walton-системе энергоснабжения* (Tandetron). Вскоре (1991) К. Персер предложил прецизионный ускорительный масс-спектрометр для измерений ^{14}C с использованием этой системы. В настоящее время две компании производят подобное оборудование: High Voltage Engineering Europa (HVEE) в Амерсфорте (Голландия) и National Electrostatic Corporation (NEC) в Миддлетоне (США).

2.2. Стандартные ускорительные масс-спектрометры

Принято считать, что тандемный ускоритель на 3 МВ является стандартным оборудованием для УМС. Приблизительно половина всех приборов в мире (около 100) относятся к данной категории ускорительных масс-спектрометров. Большинство из них предназначено только (!) для измерений радиоизотопа ^{14}C . Однако непрерывный процесс улучшения выходных устройств делает подобные приборы все более универсальными. Например, на установке (рис. 2) в лаборатории Кучеры (Vienna Environment Research Accelerator — VERA) с высокой точностью производятся измерения таких радионуклидов, как ^{10}Be , ^{14}C , ^{26}Al , ^{129}I , ^{182}Hf , ^{210}Pb , ^{236}U , ^{244}Pu [1]. Следует отметить, что хотя УМС с выходным напряжением на 3 МВ оказались наиболее универсальными в большинстве применений, УМС с выходным напряжением 5 МВ обладают явным преимуществом при измерениях, например, радиоизотопа ^{36}Cl . Это связано с трудностью сепарации стабильной изобары ^{36}S при использовании более низких энергий. В последние годы наметилась тенденция к уменьшению УМС-устройств, что помимо уменьшения производственных площадей отразится и на снижении стоимости УМС. Существенный прорыв в этой области был сделан в Цюрихе (рис. 2). Было показано, что $^{12}\text{CH}_2^-$ и $^{13}\text{CH}^-$ ионы диссоциируют даже при зарядовом состоянии $1+$, если толщина газового стриппера достаточно большая. Происходит это благодаря ударному распаду — процессу хорошо известному в низко-

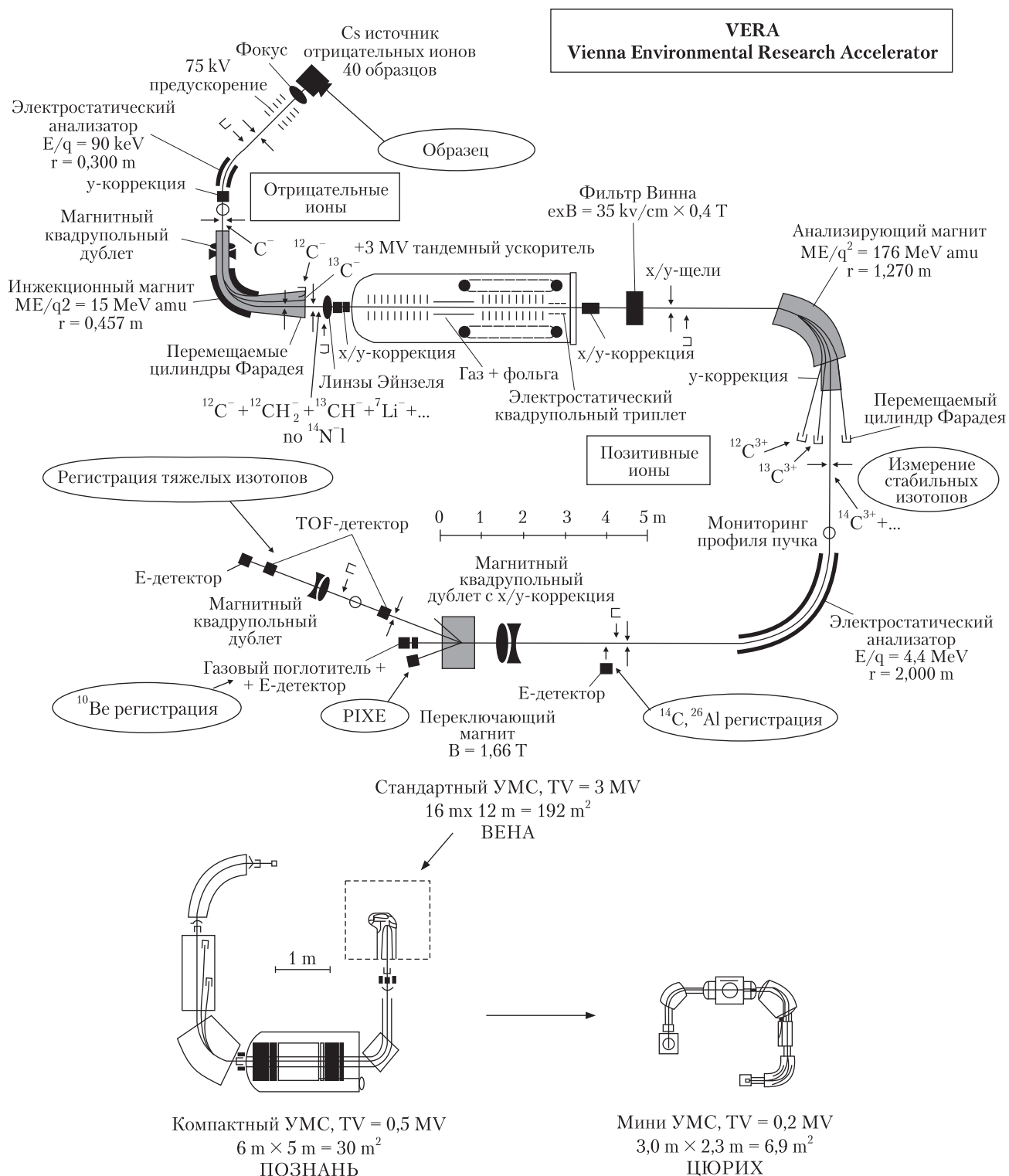


Рис. 2. Состояние и тенденция развития ускорительных масс-спектрометров [1]

вольтовой масс-спектрометрии — что, в итоге, позволяет снизить выходное напряжение от 3 до 0,5 МВ.

3. ПРИМЕНЕНИЕ

Основная сфера применения УМС — это измерение долгоживущих радионуклидов на

природных уровнях. Поскольку радионуклиды присутствуют в любом земном и внеземном веществе, а технология УМС позволяет контролировать их содержание на ультраследовых уровнях, то область применений УМС охватывает множество направлений. В таблице

Применения УМС в семи наибольших доменах окружающей среды [1]

Область определения	Область применения
Атмосфера	Космогенные и антропогенные радионуклиды в атмосфере ($^3\text{H } t_{1/2}=12,3 \text{ a}$), ^3H , ^7Be (53 d), ^{10}Be ($1,5 \times 10^6 \text{ a}$), ^{14}C (5730 a), ^{14}C , ^{26}Al ($7,1 \times 10^5 \text{ a}$), ^{32}Si (140 a), ^{36}Cl ($3,01 \times 10^5 \text{ a}$), ^{36}Cl , ^{39}Ar (269 a), ^{81}Kr ($2,3 \times 10^5 \text{ a}$), ^{85}Kr (10,8 a), ^{129}I ($1,7 \times 10^7 \text{ a}$), ^{129}I) Изучение незначительных примесей газов: CO_2 , CO , OH , O_3 , CH_4 (^{14}C) Транспорт и происхождение углеродсодержащих аэрозолей (^{14}C , ^{14}C) и лёсса (^{10}Be) Обмен воздуха стратосферы и тропосферы (^7Be , ^{10}Be)
Биосфера	Датирование в археологии и других областях (^{14}C , ^{41}Ca ($1,04 \times 10^5 \text{ a}$)) Калибровка с помощью колец деревьев, кораллов, осадочных пород озер и океанов, пещер (^{14}C) Исследования в судебной медицине с помощью датирования по бомбовому пику (^{14}C) Исследования мечеными атомами in vivo в растениях, животных и человеке (^{14}C , ^{26}Al , ^{41}Ca , ^{79}Se ($3,0 \times 10^5 \text{ a}$), ^{99}Tc ($2,11 \times 10^5 \text{ a}$), ^{129}I)
Гидросфера	Датирование грунтовых вод (^{14}C , ^{36}Cl , ^{39}Ar , ^{81}Kr , ^{129}I) Модели круговорота мирового океана (^{14}C , ^{14}C , ^{39}Ar , ^{99}Tc , ^{129}I) Палеоклиматические исследования осадочных пород озер и океанов (^{14}C)
Криосфера	Палеоклиматические исследования в ядрах льда из ледников и ледниковых щитов полярных льдов (^{10}Be , ^{14}C , ^{26}Al , ^{32}Si , ^{36}Cl , ^{39}Ar , ^{81}Kr) Изменение интенсивности космических лучей со временем (^{10}Be , ^{14}C , ^{36}Cl) Идентификация по бомбовому пику (^{36}Cl , ^{41}Ca , ^{129}I)
Литосфера	Датирование выходов породы и исследования эрозии поверхности горных пород (^{10}Be , ^{14}C , ^{26}Al , ^{36}Cl) Контролирование нейтронного потока в урановых минералах (^{236}U ($2,34 \times 10^7 \text{ a}$)) Палеоклиматические исследования в лёссах (^{10}Be) Изучение движения одной тектонической плиты относительно другой с помощью измерения вулканических горных пород (^{10}Be)
Космосфера	Космогенные радионуклиды в метеоритах и лунном веществе (^{10}Be , ^{14}C , ^{26}Al , ^{36}Cl , ^{41}Ca , ^{44}Ti (60 a), ^{59}Ni ($7,5 \times 10^4 \text{ a}$), ^{60}Fe ($1,5 \times 10^6 \text{ a}$), ^{129}I) Возможные существующие остатки сверхновых звезд на Земле (^{60}Fe , ^{146}Sm ($1,08 \times 10^8 \text{ a}$), ^{182}Hf ($8,9 \times 10^6 \text{ a}$), ^{244}Pu ($8,1 \times 10^7 \text{ a}$), ^{247}Cm ($1,56 \times 10^7 \text{ a}$) Отношения стабильных изотопов микропримесей в предсолнечной пыли (Pt, Os) Геохимическое определение солнечных нейтрино (^{99}Tc , ^{205}Pb ($1,5 \times 10^7 \text{ a}$)) Поиск необычных частиц (сверхтяжелых элементов, частично заряженных частиц, аномально тяжелых изотопов, неизвестной материи, темной материи)
Техносфера	Отходы переработки ядерного топлива (^{85}Kr , ^{99}Tc , ^{129}I) Измерение времени полураспада (^{32}Si , ^{41}Ca , ^{44}Ti , ^{60}Fe , ^{79}Se , ^{126}Sn) Измерение температуры термоядерной плазмы (^{26}Al) Измерение нейтронного потока бомбы Хиросимы (^{36}Cl , ^{41}Ca , ^{63}Ni (100 a)) Ядерная безопасность (^{233}U ($1,59 \times 10^5 \text{ a}$), ^{236}U , ^{237}Np ($2,14 \times 10^6 \text{ a}$), ^{239}Pu ($2,41 \times 10^4 \text{ a}$), ^{240}Pu ($6,56 \times 10^3 \text{ a}$), ^{242}Pu ($3,73 \times 10^5 \text{ a}$), ^{244}Pu)

Примечание. Радионуклиды, измеренные в соответственной области применения, указаны в скобках. Подчеркнутые радионуклиды определяли в продуктах антропогенного происхождения. Полураспады также приведены, когда радионуклиды возникли впервые.

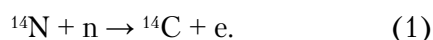
приведены сферы применения УМС на сегодняшний день.

Из таблицы следует, что весь физический мир условно разделен на семь крупных доменов: атмосфера, биосфера, гидросфера, криосфера, литосфера, космосфера и техносфера. Легко понять, что долгоживущие изотопы пронизывают весь окружающий нас мир, поэтому нет никакой возможности описать многие приложения УМС в деталях в рамках одного обзора. Следовательно, далее будут кратко изложены лишь отдельные фрагменты таблицы.

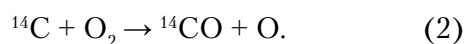
3.1. Датирование с помощью радиоизотопа ^{14}C

3.1.1. Происхождение ^{14}C

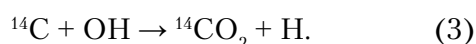
Углерод является одним из основных строительных элементов всего органического мира на Земле. Например, тело человека весом 70 кг содержит около 17 кг углерода. Почти весь этот углерод состоит из двух стабильных изотопов: ^{12}C (98,9 %) и ^{13}C (1,1 %). Незначительную фракцию углерода ($1,2 \times 10^{-12}$) составляет долгоживущий радиоуглерод ^{14}C . Его происхождение связано с космическими лучами. Последние включают в себя, наряду с другими частицами, высокоэнергетические протоны, образующиеся как на Солнце, так и вне солнечной системы. Эти частицы постоянно бомбардируют атмосферу Земли, производя так называемые вторичные нейтроны. Последние вследствие неупругих столкновений в атмосфере захватываются азотом, образуя радиоуглерод ^{14}C в результате ядерной реакции



Свежеобразованные нуклиды ^{14}C весьма реакционны и поэтому тут же образуют монооксид углерода по реакции



В дальнейшем монооксид углерода реагирует с радикалом OH , образуя двуокись углерода в результате реакции



Дальнейшее смешивание $^{14}\text{CO}_2$ со стабильным атмосферным CO_2 в течение длительного времени способствует обменным процессам с биосферой (фотосинтезом) и гидросферой (растворением в океанах, морях и других водоемах). Важно отметить, что приблизительно 20 % всего атмосферного CO_2 циркулирует через все упомянутые резервуары в течение одного года. Как следствие достигается равновесное распределение радиоуглерода ^{14}C в природе: ~93 % в океанах, ~5 % в биосфере и ~2 % в атмосфере.

4. РАДИОИЗОТОПНЫЙ МЕТОД

4.1. Радиоизотопный метод определения возраста образцов

Радиоактивный метод определения возраста образцов был создан *У.Ф. Либби* в конце 40-х годов прошлого века. Это открытие принесло ученому Нобелевскую премию по химии в 1960 г. Метод основан на законе радиоактивности

$$d(^{14}\text{C}_t)/dt = \lambda \cdot ^{14}\text{C}_t = -(\ln 2)/(t_{1/2}) \cdot ^{14}\text{C}_t, \quad (4)$$

где $^{14}\text{C}_t$ обозначает число радиоактивных атомов в момент времени t ; λ — константа распада; $\ln 2$ — натуральный логарифм 2 ($\ln 2 = 0,693$); $t_{1/2}$ — период полураспада (5 730 лет).

Когда живой организм умирает, снабжение его свежим углеродом из окружающей среды прекращается, в результате радиоактивность организма уменьшается экспоненциально со временем

$$^{14}\text{C}_t = ^{14}\text{C}_0 \cdot e^{-\lambda t}. \quad (5)$$

Зная начальное количество ^{14}C ($^{14}\text{C}_0$) и измеряя величину $^{14}\text{C}_t$, можно определить время t , т.е. возраст объекта, по формуле

$$t = -1/\lambda \cdot \ln (^{14}\text{C}_t / ^{14}\text{C}_0) = -(t_{1/2}) / (\ln 2) \cdot \ln (^{14}\text{C}_t / ^{14}\text{C}_0). \quad (6)$$

Учет фракционирования и вариабельности атмосферы и гидросферы Голоцена. Как уже упоминалось выше, благодаря фотосинтезу CO_2 поступает в растения. При этом происходит фракционирование изотопов углерода, т.е.

сдвиг отношения $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ по отношению к эталону, который обозначается как $\delta^{13}\text{C}$:

$$\delta^{13}\text{C} = \left[\left(\frac{^{13}\text{C}/^{12}\text{C}}{\text{стан}} \right)_{\text{обр}} / \left(\frac{^{13}\text{C}/^{12}\text{C}}{\text{стан}} \right) - 1 \right] \times 1000 \text{ permill.} \quad (7)$$

Международным радиоуглеродным стандартом является образец щавелевой кислоты SRM4990 из американского национального бюро стандартов. Для проведения прямого сравнения радиоуглеродных измерений для различных образцов их все приводят к стандартному изотопному сдвигу $\delta^{13}\text{C} = -25$ permill (типичная величина для большинства деревьев):

$$\delta^{14}\text{C} = \delta^{14}\text{C} - 2(\delta^{13}\text{C} + 25) (1 + 10^{-3}\delta^{14}\text{C}) \text{ permill.} \quad (8)$$

Расчет радиоуглеродного возраста (РВ) проводится по формуле

$$\text{РВ} = 8033 \ln(1/(1 + 10^{-3}\delta^{14}\text{C})) \text{ лет ВР} \quad (\text{ВР} = 1950). \quad (9)$$

Для перехода к календарному возрасту (КВ) используют калибровочную кривую, построенную по измерениям радиоуглеродного содержания в точно датированных образцах колец деревьев. К началу 1980 гг. была получена кривая, покрывающая 7 240 лет ВР. Таким образом, калибровочная кривая учитывает вариабельность атмосферного содержания углерода.

В заключение в связи с фактором «вариации $\delta^{13}\text{C}$ » отметим, что по современным представлениям существуют две основные компоненты дегазации Земли: водно-углекислую и углеводородную (Б.М. Валяев, 1997). Вынос глубинного метана сопоставим с выносом углекислоты. На рис. 3 приведены вариации $\delta^{13}\text{C}$ углерода метана с глубиной.

Видно, что в недрах нефтегазоносных регионов параметр $\delta^{13}\text{C}$ существенно меняется: от -15 до -75 ‰. Причем даже в двух близко расположенных регионах (Италия и Германия) метан характеризуется существенно различным $\delta^{13}\text{C}$: -70 против -30 (см. рис. 3). Одной из причин данных изменений может быть различие в механизмах формирования

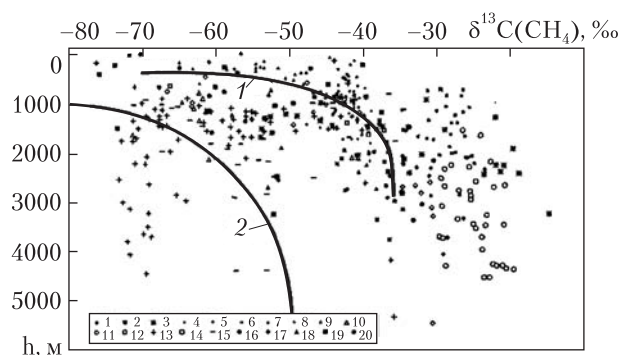


Рис. 3. Вариации изотопного состава углерода метана с глубиной в недрах нефтегазоносных регионов (Б.М. Валяев). Кривая изменения изотопного состава углерода метана с глубиной: 1 – осредняющая [2], 2 – ограничивающая генерационная (Э.М. Прасолов, 1990); нефтегазовые регионы: 1 – Северный Бассейн, Калифорния, 2 – Западная Дельта, Калифорния, 3 – Южный Бассейн, Калифорния, 4 – Центральный Канзас, 5 – Нимеха, Канзас, 6 – Седгуик, Канзас, 7 – Чероки, Канзас, 8 – Анадарко, Канзас, 9 – Форест-Сити, Канзас, 10 – Верхняя Австрия, 11 – Нижняя Австрия, 12 – Чехия, 13 – Бассейн По, Италия, 14 – Северо-Западная Германия, 15 – Южная Германия, 16 – Средняя Азия, 17 – Восточная Сибирь, 18 – Западная Сибирь, 19 – Поволжье, 20 – Китай (использованы результаты Б. М. Валяева, Г. А. Титкова, 1985; 1996; Б. М. Валяева и др., 1985; 1995; Э.М. Галимова, 1973; 1995; В. Е. Ерохина, 1980; Р. D. Jenden et al., 1988; 1989; L. Matlavelly et al., 1983; M. Schoell, 1983; 1984; 1988) <http://geolib.narod.ru/Journals/OilGasGeo/1997/09/Stat/06/stat06.html>

метана, приводящее к двум его категориям: абиогенному метану и биогенному метану. Это разделение условно, поскольку «сырьем» для абиогенного метана также являются когда-то жившие организмы. Бесспорным абиогенным процессом формирования метана является его термokatалитический синтез из простых газов CO_2 и H_2 в нижней части земной коры. В образовании биогенного метана принимают участие микроорганизмы (метаногены), сосредоточенные в таких природных нишах, как донные осадки, переувлажненные почвы, мусорные свалки и другие экосистемы, обладающие восстановительными свойствами [7].

4.1.2. Измерение радиоизотопа ^{14}C с помощью УМС

Содержание радиоизотопа ^{14}C в образце может быть измерено либо посредством регистрации радиоактивности (бета-распада), либо посредством прямого счета атомов ^{14}C , точнее — изотопного отношения $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$. В последнем случае нет необходимости в ожидании достаточно редких актов распада атомов ^{14}C . Поскольку археологи стремятся сохранить как можно больше материала, важным является размер или количество образца для проведения достоверного эксперимента по датированию. В этом смысле технология УМС обладает уникальным преимуществом по сравнению с методикой счета распадов. Расчеты показывают, что в 1 мг (10^{-3} г) тела человека содержится около 6×10^7 атомов ^{14}C .

Радиоактивность подобного образца близка к $2,3 \times 10^{-4}$ Бк (Беккерель — единица активности нуклида в системе СИ, $1 \text{ Ки} = 3,7 \times 10^{10}$ Бк), что соответствует приблизительно одному распаду в час. С другой стороны, с помощью УМС возможно регистрировать около 2 % всего количества атомов ^{14}C в течение 1 ч, т.е. около 1,2 млн. частиц. Отсюда следует фактор усиления чувствительности метода УМС по отношению к ^{14}C на уровне 10^6 . На практике это означает, что вместо использования нескольких граммов углерода в течение нескольких дней при использовании методики β -регистрации измерения с помощью УМС могут быть выполнены с образцом весом в 1 мг в течение 1 ч при том же уровне точности.

Подготовка пробы образца в экспериментах по датированию с использованием ^{14}C является критической в подобных измерениях. В случае применения УМС процедура включает следующее: а) очистка образца от неуглеродных частиц, б) полное превращение углерода в CO_2 , в) восстановление CO_2 до элементного углерода (графитизация) и г) прессование таблеток, содержащих обычно до 1 мг углерода. Как правило, в источник ионов УМС помещают до 40 образцов (30 — неизвестных, 8 — стандартов с из-

вестным отношением $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$, и 2 — фоновых). При внимательном соблюдении всех требований к пробоподготовке и процедуре измерений изотопных отношений точность датирования составляет ± 35 лет (VERA инструмент, некалиброванный радиоуглеродный возраст, не превышающий 10,000 BP) [1, 2]. Однако приведенная неопределенность может заметно возрасти при переходе к калибровочной кривой по древесным кольцам, для которой характерны «покачивания» (wiggliness) [1]. Предельное датирование с использованием ^{14}C не превышает 50,000 до BP. Предел определяется не статистикой счета, а ограниченной коррекцией фона, имеющей место в том же временном интервале. Это означает, что уровень неизбежных примесей в современном углероде при подготовке образца для УМС-измерений должен быть ниже 1 ‰ (т.е. 1 мкг на 1 мг). Существуют и другие факторы, которые должны быть учтены (изотопное фракционирование, эффекты резервуара, проблема «старое дерево» и др.) для получения надежных данных. Все это вместе взятое дает основание следовать правилу У.Ф. Либби: радиоуглеродный метод датирования в чем-то схож с хирургией — чистота, осторожность, серьезность и практичность.

4.2. Исследование экологических и археологических объектов

4.2.1. Археологические сенсации

Метод радиоуглеродного датирования, открытый У. Либби в конце 40-х годов, как уже упоминалось выше, был отмечен Нобелевской премией как раз по результатам определения возраста в археологии, геологии, геофизике и других науках. Это означает, что основные применения радиоизотопа ^{14}C были развиты задолго до появления УМС как новой аналитической технологии. Что изменилось с приходом УМС, так это то, что стали доступными другие сферы исследования, недоступные для β -регистрации, т.к. требовалось слишком много материала для анализа.

Туринская плащаница. Сразу в трех лабораториях мира были поставлены эксперименты по датированию плащаницы, и во всех группах полученный результат относился к средним векам вместо ожидаемой даты, а именно даты смерти Христа. Этот результат, несмотря на тщательность проведения УМС-измерений, вызвал большой резонанс в христианском мире и в определенной степени недоверие со стороны церковных кругов к данной методике. С тех пор прошло более 15 лет, однако конфликт до сих пор не разрешен.

Ледовый человек. Другим, хотя и менее сенсационным, объектом был Ледовый человек (Ice-man, названный *Йету (Oetzi)* от региона Oetztal, где он был найден), случайно обнаруженный в 1991 г. горными экскурсоводами в ледниковом депозите Европейских Альп (рис. 4).

Двумя лабораториями (в Цюрихе и Оксфорде) с использованием УМС были выполнены первые радиоуглеродные измерения костных и тканевых образцов, взятых от Ледового человека. Из этих измерений следует, что радиоуглеродный возраст данного объекта равен $4\,550 \pm 19$ лет ВР (рис. 5). С помощью калибровочной кривой, построенной на основе радиоуглеродного содержания в точно датированных образцах колец деревьев, определен и календарный возраст, показывающий, что человек жил 5 100–5 350 лет тому назад. Намного больший «разброс» интервала времени по сравнению с радиоуглеродной датой, полученной прямо из УМС-измерений, обусловлен «покачиванием» калибровочной кривой. Тем не менее результаты недвусмысленно показали, что Ледовый человек жил в период до Бронзового Века (2 400–800 ВС), т.е. в конце неолита.

Дальнейшие исследования других предметов человека, а также, связанных с данной находкой различных ботанических объектов, проведенные в лаборатории В. Кучеры с помощью VERA [2], подтвердили «неолитовый» возраст Ледового человека, а также несколько прояснили климатические особенности того време-



Рис. 4. Частично освобожденное ото льда тело Ледового человека, рассматриваемое двумя известными альпинистами Хансом Каммерландером (слева) и Рейнхольдом Месснером (справа). В руке Каммерландера часть деревянной конструкции, позже идентифицированной как средство для перемещения человека. В правом верхнем углу предмет, напоминающий лук, нижняя часть которого воткнута в лед, а верхняя прислонена к скале

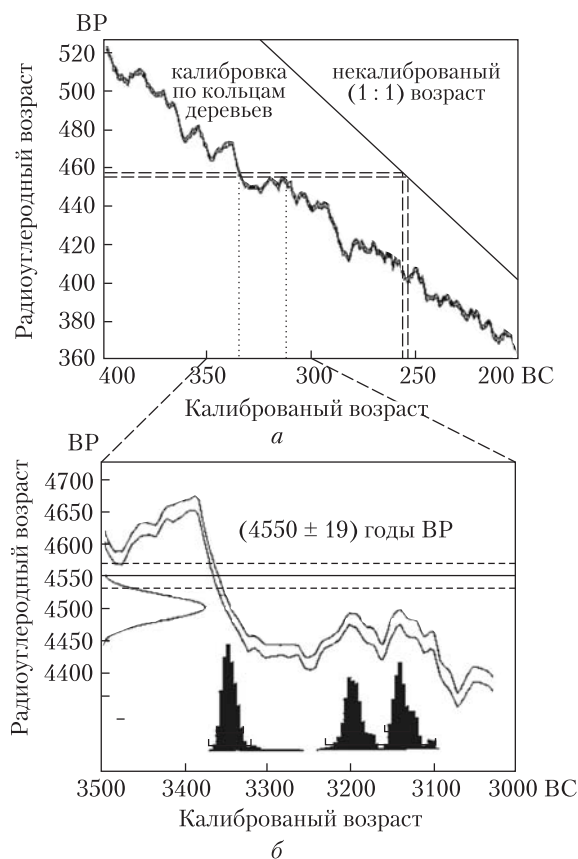


Рис. 5. Определение возраста Ледового человека с использованием ^{14}C методом УМС

Образец	Зоологическое имя	Определяемые ионы [m/z]																
		1109	1151	1449	1452	1458	1504	1708	1776	2031	2086	2214	2487	2519	2595	2622*	3266	3294
На 43/91/130		•	•	•			•				•							•
На 6/91		•	•	•			•				•							•
На 2/91		•	•	•			•				•							•
На 5/91		•	•	•			•				•							•
Овца	<i>Ovis aries</i>	•	•	•			•				•							•
Коза	<i>Capra hircus</i>	•	•	•			•				•							•
Ибекс	<i>Capra ibex</i>	•	•	•			•				•							•
Корова	<i>Bos taurus</i>	•	•	•	•		•				•							•
Як	<i>Bos grunniens</i>	•	•	•			•				•							•
Лось	<i>Cervus elaphus</i>	•	•	•			•				•							•
Западный олень	<i>Capreolus capreolus</i>	•	•	•			•				•							•
Серна	<i>Rupicapra rupicapra</i>	•	•	•			•				•							•
Дикий кабан	<i>Sus scrofa</i>	•	•	•			•				•							•
Европейский лось	<i>Alces alces</i>	•		•			•				•							•
Карнбу	<i>Rangifer tarandus</i>	•		•			•				•							•

Рис. 6. Таблица сравнений пиков диагностических пептидных ионов из образцов верхней одежды (На 43/91/130 и На 6/91), мокасин (На 2/91) и гамашей (На 5/91), принадлежавшим *Oetzi* с пиками из соответствующей базы данных животных [17]

ни. Одной из мотиваций данного исследования было следующее. Существуют доказательства о том, что в начале Голоцена (Holocene) (период около 10 000 лет после последнего ледникового периода) климат на Земле был теплее. К подобным изменениям температуры особенно чувствительна растительность высокогорья. На это указывают результаты по датированию, например, остатки деревьев, растущих на наивысшей горе Австрийских Альп (Pasterze Glacier of the Grossglockner) с возрастом между 8 000 и 6 900 BC. Из этого следует вывод о том, что растительность, должно быть, существовала в упомянутых горных местах, которые в настоящее время покрыты ледниками. Аналогично можно предположить, что место обнаружения Ледового человека (высокогорный перевал) также в те далекие времена не было покрыто льдом. К вышесказанному следует добавить результаты недавних исследований по идентификации образцов одежды *Oetzi* с использованием матричной лазерно-десорбционной масс-спектрометрии (matrix-assisted laser desorption time-of-flight mass spectrometry MALDI-TOF MS) на основе сопоставления пептидных спектров остатков волос шкур животных (рис. 6) [17].

С использованием специфической протеомной методики было установлено, что одежда и гамаша были из шкуры овцы, а мокасины — из крупного рогатого скота. Из этого следует предположение, что *Oetzi* был охотником, бродившим по альпийским пастбищам, пригодным в те времена для овец и коров.

4.2.2. Картографирование океанов и морей

В 1990 г. в Институте океанографии (Вудсхолл, США) — Woods Hole Oceanographic Institution Woods Hole Oceanographic Institution — был запущен специальный УМС с грандиозным проектом: картографирование всех океанов мира на основе радиоуглеродных измерений [3]. По сравнению с первой попыткой подобного рода, проведенной в 70-х годах прошлого века на основе методики β-счета с использованием около 250 литров воды, УМС-технологии понадобилось всего лишь 0,5 л воды для проведения трехмерного картографирования океанов Земли. Целью этого глобального эксперимента являлось получение линий движения потоков воды в океанах, что чрезвычайно важно и необходимо для глобального моделирования климата Земли в целом. Позже еще

один «океанографический индикатор» (^{39}Ar) был использован в подобных УМС-измерениях. С учетом химической нейтральности данного элемента и времени его периода полураспада (269 лет), близкого к типичным временам перемещения водных потоков в океанах, УМС-измерения с данным радиоизотопом весьма существенны для более глубокого понимания динамических характеристик океанов Земли.

4.2.3. Ядерное оружие и ядерная энергетика

Антропогенные радиоизотопы. Производимые человеком радиоизотопы могут (условно) быть поделены на две большие группы: непреднамеренные и преднамеренные [1]. К первой группе относятся те, которые выделяются при ядерных испытаниях и в ядерной энергетике. Преднамеренное производство радиоизотопов в основном связано с получением короткоживущих элементов для использования в медицине как для диагностики, так и радиотерапии. Благодаря высокой чувствительности в измерении долгоживущих радиоизотопов УМС позволяет проводить уникальные исследования *in vivo* в клинике, причем с ничтожным уровнем радиоактивности для организма вследствие больших $t_{1/2}$.

Продукты ядерных испытаний и атомных станций. Одним из самых чудовищных видов испытаний ядерного оружия в истории человечества явились атомные бомбардировки японских городов Хиросимы и Нагасаки в 1945 г. УМС-измерения радиоизотопа ^{63}Ni ($t_{1/2} = 100$ лет), образовавшегося в результате ядерной реакции с участием ^{63}Cu в медьсодержащих материалах, позволили оценить величину потока быстрых нейтронов, образовавшихся в результате этих взрывов [4]. Информация о величинах как быстрых, так и медленных нейтронных потоков необходима для установления корреляций между дозой облучения и состоянием человеческого организма. В этой связи в рамках проекта «Life Span Study» [5], около 120 000 человек из Хиросимы и Нагасаки, включая необлученных «контрольных»

добровольцев, были обследованы на предмет выявления эффектов последствия радиации в организмах пострадавших. УМС-анализ радиоизотопа ^{41}Ca , образующегося активацией медленными нейтронами кальция ^{40}Ca эмали зубов у пациентов, выживших после атомной бомбардировки, был недавно иницирован в Мюнхене с использованием тандемного ускорителя с энергией 14 МэВ [6]. Результаты подобных измерений необходимы для получения надежных данных о радиационных нейтронных дозах, существенных для продвижения дальнейших работ в рамках вышеупомянутого проекта «Life Span Study».

Так называемый «бомб-пик» радиоизотопный эффект в атмосфере возник между 1950 и 1963 гг. в результате интенсивных испытаний ядерного оружия в атмосфере. Суммарная сила взрывов была эквивалентна приблизительно 25 000 бомб, одна из которых было сброшена на Хиросиму. Среди образовавшихся радиоизотопов ^{14}C , как выяснилось, был надежным индикатором в изучении глобальной динамики кругооборота углерода. Так, при появлении Договора о запрете ядерных испытаний в 1963 г. содержание радиоизотопа ^{14}C в атмосфере было в два раза выше по сравнению с природной концентрацией. Излишек углерода ^{14}C распределился среди других резервуаров (биосфера, гидросфера), что понизило содержание данного изотопа в атмосфере до 10 % по сравнению с природным уровнем. Следует отметить, что радиоактивный распад ^{14}C изменяет отношение $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ на 1 % в течение 80 лет, тогда как динамическое перемешивание снижает «бомб-пик» отношение $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ приблизительно на 1 % в течение года. Поскольку величина отношения $^{14}\text{C}/^{12}\text{C}$ в атмосфере контролируется начиная с 1950 гг., это обеспечивает калибровочной кривой измерения по датированию совсем недавних объектов (причем с неопределенностью) всего в 1–2 года. Например, в судебной медицине смерть двух человек в конце 1980-х могла быть определена с относительной разницей в один год [8].

Другим источником радиоизотопов являются выбросы заводов по переработке ядерного топлива в океан. Одним из них является ^{129}I ($t_{1/2} = 1,7 \times 10^7$ л) — продукт выброса, например, предприятия La Hague (Франция). Данный радиоизотоп используется в исследованиях как «океанографический» трейсер. В глобальном масштабе локализация сильного загрязнения радиоизотопом ^{129}I от перерабатывающих ядерное топливо предприятий может быть легко определена с помощью метода УМС как в пространстве, так и во времени.

4.2.4. Чернобыльская катастрофа

В нормальном режиме эксплуатации атомной электростанции (АЭС) выбросы радионуклидов незначительны и, в основном, они обусловлены радиоизотопами РБГ (криптон, ксенон) и йода ($^{131-135}\text{I}$). Авария на ЧАЭС в 1986 г. привела к загрязнению окружающей среды радионуклидами, в том числе такими, как изотопы Рц, ^{123}Xe , ^{85}Kr , ^{131}I , ^{129}I , ^{132}Te , ^{134}Cs , ^{137}Cs , ^{95}Zr , ^{103}Ru , ^{106}Ru , и ^{90}Sr [9]. После взрыва наиболее летучие элементы, такие, как йод, цезий и теллур, поглотились атмосферой, и в течение нескольких дней радиационное облако благодаря ветру достигло скандинавских стран (Финляндия и Швеция) до того, как появиться в других регионах Европы [9]. По некоторым оценкам (Yiou et al., 1994), около 1,3 кг (6×10^{24} атомов) радиоизотопа ^{129}I было выброшено в атмосферу сразу же после взрыва на ЧАЭС, что составляет только 2 % общего количества ^{129}I , появившегося в атмосфере Земли в результате ядерных испытаний. Однако выброс от взрыва на ЧАЭС был достаточно локализован в пространстве и во времени и поэтому, помимо определенных областей Украины, Белоруссии и России, значительные дозы облучения получили также и скандинавские страны. Максимальному облучению подвергся персонал станции и пожарные. Большинство жителей в зонах радиоактивного загрязнения подверглось γ -облучению в пределах 5–10 мЗв (Зиверт — эквивалентная доза

излучения в системе СИ, 1 бэр = 0,01 Зв) и лишь незначительная часть в дозах до 100–200 мЗв. Облучение носило комбинированный характер — внешнего и внутреннего — от поступавших в организм радионуклидов. Основную опасность, особенно для детей, представляли радиоизотопы $^{131-135}\text{I}$, поступавшие с молоком и молочными продуктами. Эти изотопы составили значительную часть активности, выброшенной из разрушенного реактора 4-го блока ЧАЭС (27×10^{-16} Бк). Радиоактивный йод является изотопом одного из важнейших биогенных элементов живых организмов. Он необходим для синтеза гормонов щитовидной железы, действие которых осуществляется на всех уровнях в цепи *клетка* → *орган* → *организм*. О некоторых возможностях использования технологии УМС в медико-биологических исследованиях с использованием различных радиоизотопов будет сказано в следующем разделе данного обзора.

4.3. Медико-биологические исследования с использованием радиоизотопов

С первых шагов использования УМС-технологии в научных исследованиях стала очевидной полезность радиоизотопа ^{14}C для медицины. Из всех 1 990 лабораторий ускорительной масс-спектрометрии мира (статистика на 2005 г.), ряд лабораторий полностью переключились на программы биомедицинского профиля [1]. Лидерство в этом процессе, безусловно, принадлежит Национальной лаборатории из Ливермора (США) — Lawrence Livermore National Laboratory. По словам руководителя этой лаборатории *Каролины Холивей* (кстати, биолога по образованию) будущее технологии УМС будет связано с медико-биологическими исследованиями. Радиоизотоп ^{14}C , как и в других сферах применения УМС, здесь также является наиболее часто используемым, например при исследовании метаболизма лекарственных препаратов, а также различных канцерогенов [10]. С целью ускорения движения в этом направлении в Англии (York University) недавно

был запущен специальный ускорительный масс-спектрометр с тандемным пеллетроном с энергией 5 МэВ [1]. Средства на эту весьма дорогостоящую установку были собраны от больших компаний-спонсоров, главным образом — фармацевтического профиля. В результате данная установка проводит измерения, в основном, по коммерческим заказам. Другим из наиболее привлекательных радиоизотопов для этой сферы исследований является радиоактивный изотоп кальция ^{41}Ca ($t_{1/2} = 1,04 \times 10^5$ лет). Этот изотоп характеризуется большим временем полураспада, низкой энергией распада, а также очень незначительным природным изотопным содержанием ($^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca} \sim 10^{-15}$), благодаря чему он дает сильный сигнал в спектре при очень малых его количествах в организме человека (~5 нг). Например, исходное отношение $^{41}\text{Ca}/^{40}\text{Ca}$ в образцах мочи составляет приблизительно 5×10^{-9} [11]. Это дает возможность изучать, например, метаболизм костной ткани на протяжении многих лет в различных ситуациях, в том числе и при воздействии лекарств. Уменьшение массы костей с возрастом (остеопороз) неизбежно приводит к многочисленным травмам и переломам (напр., в США происходит около 10^6 подобных травм в год, что требует 10 млрд. долларов на лечение). Поэтому ученые с надеждой смотрят на возможности УМС, благодаря которым этот недуг может быть предотвращен.

Аддукты ДНК. Пионерские исследования в этом направлении были проведены в центре ускорительной масс-спектрометрии в Ливерморе (США) [12]. Известно, что ряд канцерогенов образуют ковалентные связи с нуклеотидными основаниями ДНК (аддукты ДНК). Последние принято считать индикаторами (трейсерами) воздействия канцерогенов на организм. Прежде связь между подобными образованиями и длительностью воздействия устанавливалась при сравнительно больших дозах канцерогенов, превышающих уровни в обычной окружающей среде по причине отсутствия более чувствительных методов регист-

рации. В результате аддукты такого сорта не применялись как трейсеры воздействия канцерогенов на человеческий организм. Среди наиболее чувствительных методов для регистрации аддуктов принято считать методику с использованием радиоизотопа ^{32}P с чувствительностью ~1 аддукт на 10^{10} нуклеотидов. Поэтому логично было применить УМС, позволяющую измерять концентрацию редких изотопов в очень малых образцах (от 20 мкг до 1 мг) [12]. Ниже приведены основные результаты УМС-исследований уровня аддуктов ДНК мышей при воздействии малых концентраций соединением MeIQx (рис. 7).

Процедура работы при УМС-измерениях аддуктов ДНК была такова. После выделения ДНК из печени животного и растворения в воде получали экстракт ДНК с помощью водно-этанольной смеси (pH8) с дальнейшим диализом (3 раза) для очистки от возможных несвязанных молекул с ^{14}C . Далее ДНК разбавляли от 10 : 1 до 1 000 : 1 растворителем SDS (sodium lauryl sulfate) с концентрацией 1 мг/мл. Наконец, около 0,5 мг полученной ДНК/SDS смеси высушивали в вакууме в кварцевой трубке и далее конвертировали в графит для масс-спектрометрических измерений. В результате проведенных исследований был установлен предел детектирования для аддуктов ДНК, меченных ^{14}C , равен одному аддукту на 10^{11} нуклеотидов, что на порядок выше по сравнению с самым чувствительным ^{32}P -методом. Это обусловлено, прежде всего, прямым масс-спектрометрическим измерением аддуктов, имеющих в биосистеме. Подобные измерения на 3—5

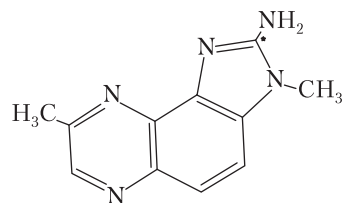


Рис. 7. Структура соединения MeIQx. Молекула была синтезирована с одним ^{14}C атомом (·) в имидазольном кольце [12]

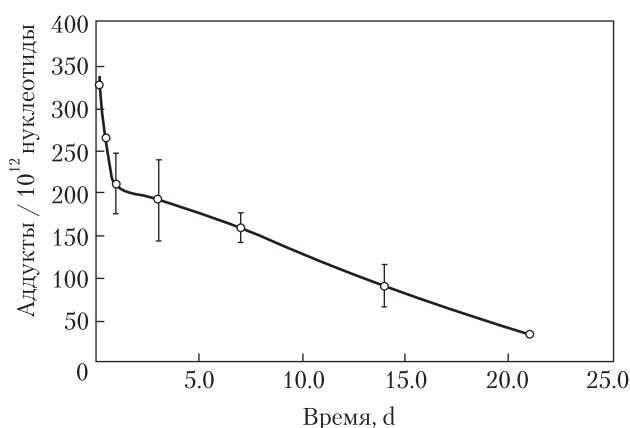


Рис. 8. Кривая распада аддуктов ДНК-никотин в печени мышей [13]

порядков чутливіше інших методик, оснований на класических радиоиммунних підходах, GC-MS, лазерної фосфоресценції і флуоресцентної спектроскопії [12]. Однак УМС-вимірювання аддуктів ДНК на слідом рівні не дають інформації об їх структурі. Молекулярна інформація може бути отримана при спільному використанні УМС-технології з хроматографією для очищення і розділення аддуктів до вимірювань ізотопних відношень вуглецю ^{14}C . Інтенсивні дослідження, в тому числі біомедицинського напрямку, з використанням УМС проводяться в Китаї, в частині в Пекинському університеті [13]. Один з результатів приведений на рис. 8, з якого випливає, що кінетика розпаду аддуктів в системі «ДНК + нікотин» характеризується *in vivo* двома стадіями. З цього випливає висновок про утворення, як мінімум, двох різних один від одного аддуктів з різними термінами розпаду. Експерименти були проведені з нікотиним, «меченим» радіоізотопом вуглецю ^{14}C . Виділена ДНК переводилася в графітовий зразок для дослідження на прискорюючому мас-спектрометрі Пекинського університету. Другі проекти цього напрямку були пов'язані з використанням ізотопу ^{79}Se в якості трейсера для контролю метаболізму і біодина-

мики селена в організмі при різних захворюваннях. Також слід згадати дослідження процесів накоплення вільного кальцію в клітці при впливі різних канцерогенів, використовуючи в даному випадку в якості трейсера елемент ^{14}C .

Дослідження дозозалежного зв'язування трихлоретилену (ТХЕ, ТСЕ) з ДНК печини мишей і протеїнами при використанні малих доз в зв'язі з вивченням механізмів канцерогенності ТХЕ проведено авторами [13] методом УМС. Відомо, що взаємодія ТХЕ з ДНК, РНК відбувається в присутності активуючої метаболізму біоструктури (наприклад, цитохрому Р-450 2Е1). Однак структура аддуктів не визначена через відсутність достатньо чутливої методики при малих дозах ТХЕ. Таким чином, якщо зв'язування з ДНК є ключовим в канцерогенному впливі ТХЕ, необхідні дані про кінетику формування відповідних аддуктів при низьких, існуючих відношеннях до людського організму, дозах. Подібний підхід і був реалізований в цитуєму роботі з використанням $1,2\text{-}^{14}\text{C}$ трихлоретилену ($^{14}\text{СТХЕ}$), який вводився мишам D6C3F1 з використанням УМС для реєстрації аддуктів на рівні чутливості 1 аддукт на 10^{11} нуклеотидів. Приблизно 4–5 мг протеїнів печини і 200–400 мкг ДНК використовувалися для аналізу методом УМС з метою визначення вмісту вуглецю після згорання зразка і подальшої графітизації отриманого CO_2 . Слід пам'ятати, що УМС-технологія дає інформацію тільки про ізотопне відношення (в даному випадку — $^{14}\text{C}/^{13}\text{C}$), не розділяючи вихідне сполучення від його метаболітів. Кінетика зв'язування ТХЕ і його метаболітів з ДНК і протеїнами в печині мишей приведена на рис. 9 з урахуванням вмісту радіоуглецю в контрольних мишах. Видно, що кінетика формування аддуктів є двохстадійною з початковим максимумом в інтервалі перших чотирьох годин інкубації. Максимальний рівень зв'язування происхо-

дит в період между 24 и 72 часами (~125 пг/г ДНК) [13]. Также можно заключить, что ТХЭ более активен с протеинами печени, чем с ДНК. При этом максимальный уровень взаимодействия с протеинами (2,4 нг/г протеина) наблюдается в течение первого часа после введения ТХЭ с последующим экспоненциальным спадом. В дальнейшем был проведен УМС-анализ отдельных хроматографических фракций ДНК, собранных после двухчасового воздействия на мышей дозой ТХЭ (100 мг/кг). В результате оказалось, что нуклеозид 3'-монофосфаты не содержали избыточного радиоуглерода в своем составе, т.е. последний был обусловлен связанными с ДНК молекулами ТХЭ и его метаболитами. Различие в кинетике формирования аддуктов с ДНК и протеинами (см. рис. 9) указывает на отсутствие протеиновых примесей в ДНК. Природа аддуктов *in vivo* пока не известна, что является предметом последующих исследований. Таким образом, можно заключить, что ТХЭ взаимодействует с ДНК (при дозе 2,0 мкг/кг, выход равен 4 аддукта на 10^{11} нуклеотидов), т.е. ТХЭ несмотря на малый выход продуктов реакции с ДНК все же следует отнести к генетическому токсину, поскольку уровень аддуктов зависит от дозы.

Метаболизм каротина. Каротиноиды — природные органические пигменты, синтезируемые бактериями, грибами, водорослями и высшими растениями. Идентифицировано около 600 каротиноидов. Они имеют преимущественно желтый, оранжевый или красный цвет, по строению — это циклические или ациклические изопреноиды. Каротин (от лат. *carota* — морковь) — желто-оранжевый пигмент, непредельный углеводород из группы каротиноидов. Эмпирическая формула — $C_{40}H_{56}$. Не растворим в воде, но растворяется в органических растворителях. Содержится в листьях всех растений, а также в корнях моркови, плодах шиповника и др., является провитамином витамина А (ретинол) (рис. 10). Существуют две изомерные формы каротина: α -каротин и β -каротин, различающиеся положением двойной

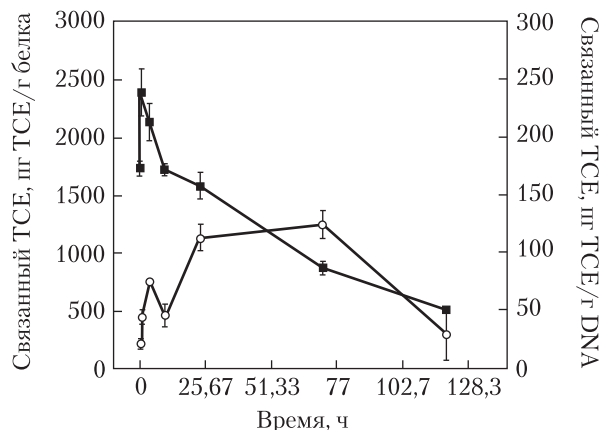


Рис. 9. Кинетика связывания ^{14}C -ТХЭ с ДНК (○) и протеинами (■) при дозе 4,1 мкг ТХЭ/кг веса животного

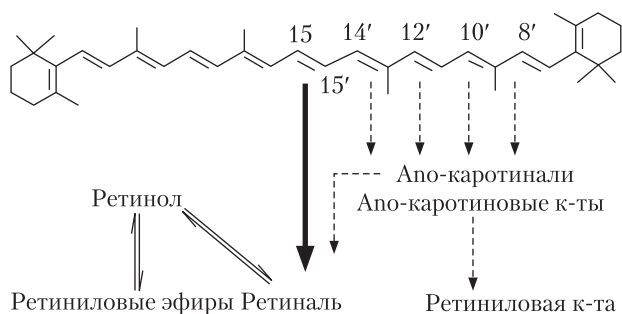


Рис. 10. Схема ожидаемых путей биотрансформации β -каротина в организме человека. Помимо основной деградации по связи 15—15' возможен разрыв и других связей в молекуле, что приводит к набору соответствующих метаболитов. Ретинол (Retinol) является стабильной формой витамина А, тогда как ретиноиновая кислота (Retinoic Acid) является посредником невидимой функции витамина А в процессах роста и эпителиальной дифференциации [15]

связи в одной из концевых групп. Недавно был проведен цикл исследований метаболизма β -каротина в человеческом организме с помощью УМС-технологии [15]. Подобные исследования невозможно провести в принципе, используя методику β -счета при допустимой для организма радиоактивности в 1 мЗв. Измерения с помощью УМС-технологии могут быть проведены с радиоактивным каротиноидом (меченым ^{14}C) при дозе < 1 мкЗв, что эквивалентно

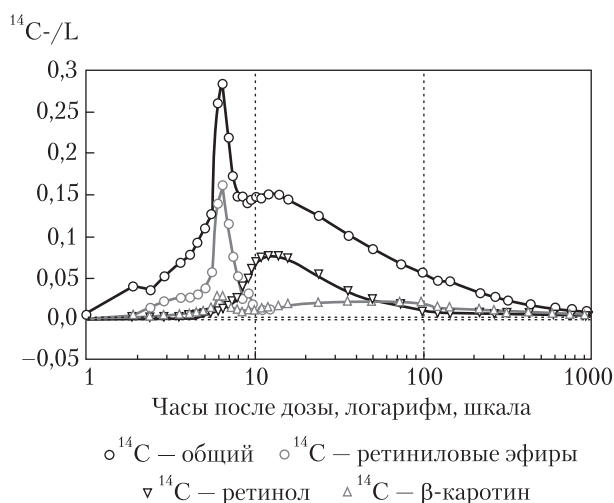


Рис. 11. Кінетика β -каротина і його метаболітів у плазмі крові за даними УМС [13]

дозі радіації, отриманій людиною в часі трансатлантичного перельоту. Це означає, що зібрані біологічні зразки для вимірювань методом УМС не вважаються радіоактивними матеріалами і тому не потребують спеціального зберігання. Слід також відзначити ще одне перевагу методів аналізу біологічних об'єктів, заснованих на радіоактивних ізотопах: аналіз проводиться без попереднього розділення, очищення і ідентифікації аналізованого об'єкта. Це дозволяє вимірювати всі можливі метаболіти (в даному випадку — β -каротин) як відомі, так і абсолютно нові. В свою чергу, наслідком подібних відкриттів є ідентифікація і визначення кількостей раніше невідомих метаболітів. Рисунок 11 ілюструє вищесказане, а саме результати аналізу зразків плазми крові після введення незначительної кількості β -каротина, що містить радіоізотоп ^{14}C .

В частині, ці дані підтверджують давній висновок про те, що ретинолієві складні ефіри (retinyl esters) з'являються в плазмі одночасно з β -каротином до появи ретинолу (retinol), т.е. вітаміну А. Також встановлено, що приблизно 60 % всього радіоізотопу ^{14}C , що знаходиться в плазмі, міститься в трьох фрак-

ціях, представлених на рис. 11. Залишене кількість ізотопу ^{14}C входить в інші метаболіти, які поки не ідентифіковані. З цього випливає важливий висновок, що β -каротин характеризується достатньо великою кількістю метаболітів (див. рис. 11), структуру яких ще потрібно вивчити.

5. СРАВНЕНИЕ МЕТОДА УМС С ДРУГИМИ АНАЛИТИЧЕСКИМИ МЕТОДИКАМИ

Представляет интерес провести сравнение измеряемых величин методом УМС с другими аналитическими методиками. В рамках данного обзора подобное сравнение будет проведено с двумя современными аналитическими технологиями, а именно SIMS и ICP-MS, в основном, по результатам анализа, проведенного в диссертации Colin Maden [16]. Очевидным является то, что для каждой конкретной аналитической задачи должен быть выбран наилучший метод анализа. Это означает, что не только такие ключевые характеристики метода, как чувствительность или предел детектирования, но и другие факторы (пропускная способность, пробоподготовка и др.) влияют на подобный выбор. Кроме того, каждая лаборатория имеет свои отличия, что также накладывает отпечаток на окончательный выбор методики. Ниже приведен краткий сравнительный анализ результатов, полученных с помощью УМС-технологии в Технологическом институте (Цюрих) с другими (SIMS, ICP-MS) современными технологиями [16].

5.1. Предел детектирования и поперечное разрешение

При проведении балк-анализа следовых элементов предел детектирования для данного поперечного (lateral) разрешения является ключевым и поэтому именно этот параметр определяет потенциал выбранной методики. Если это так, тогда сравнение методик можно провести путем построения графика в координатах «предел детектирования (концентрация) — поперечный размер пятна исследования». В ре-

зультате каждая из методик будет представлена на графике определенной площадью, связывающей эти два параметра (рис. 12). На рисунке приведена область УМС-технологии, построенная по результатам измерений на приборе PSI/ETH Accelerator AMS Технологического института в Цюрихе [16]. Видно, что область УМС, в основном, такая же, как и для SIMS, с расширением в сторону более низких пределов детектирования. Последнее вполне ожидаемо благодаря одному из ключевых достоинств УМС, а именно подавлению молекулярных и изобарных влияний за счет ускорения анализируемых ионов в ускорителе. В то же время метод УМС не может конкурировать (пока!) с технологией SIMS по другому важному параметру – поперечному разрешению. Одной из причин может быть не использование новейших источников ионов, применяемых в SIMS. Однако, тщательно анализируя данные, приведенные на рис. 12, следует помнить о следующем. В диссертации *C. Maden* [16] показано, что чувствительность УМС при балк-анализе следовых элементов может изменяться на порядки величин в соответствии с выходом вторичных ионов различных элементов при использовании различных матриц одного и того же образца. Эта особенность характерна не только для УМС-технологии. Поэтому данные, приведенные на рис. 12, не следует интерпретировать как пределы детектирования для всех следовых элементов в любых образцах при данном поперечном разрешении, а скорее – как зоны областей, определенные суммой наиболее приемлемых аналитических условий. Другими словами, данные на рис. 12 нельзя прямо использовать для выбора наиболее приемлемой методики с целью решения конкретной аналитической проблемы.

5.2. Проблемы анализа малых образцов

Одной из особенностей анализа малых образцов является искусство нахождения оптимальной его установки в приборе для получения воспроизводимых измерений. Если пред-

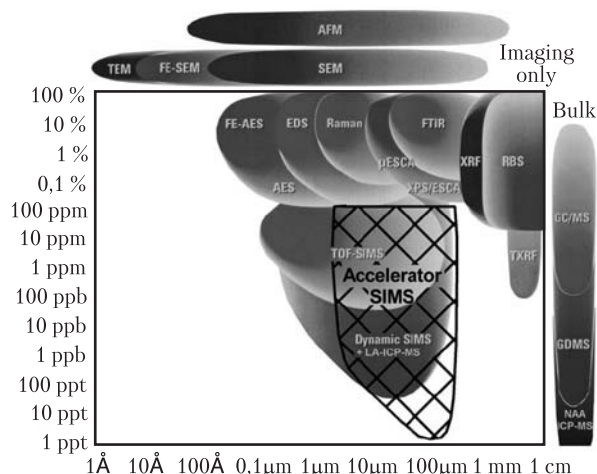


Рис. 12. Сравнение УМС с другими аналитическими методиками [16]. Другие методики, дающие только изображение или концентрацию, также отражены на графике (вдоль соответствующих осей). AFM – атомная силовая микроскопия, SEM – сканирующая электронная микроскопия, FE-SEM – сканирующая электронная микроскопия с полевой эмиссией, TEM – просвечивающая электронная микроскопия, AES – оже-электронная спектроскопия, FE-AES – AES с фокусировкой электронного луча, EDS – рентгеновская спектроскопия с дисперсией энергии, Raman – μ -раман спектроскопия, XPS – рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия, ESCA – электронная спектроскопия для химического анализа, FTIR – инфракрасная спектроскопия с фурье-преобразованием, XRF – рентгеновская флюоресценция, RBS – резерфордская спектроскопия обратного рассеяния, TXRF – рентгеновская флюоресценция полного отражения, TOF-SIMS – времяпролетная масс-спектрометрия вторичных ионов, Dynamic-SIMS – динамическая времяпролетная масс-спектрометрия вторичных ионов, ICP-MS – масс-спектрометрия с индуктивно-связанной плазмой, LA-ICP-MS – ICP-MS с лазерной абляцией, GC/MS – масс-спектрометрия с газовой хроматографией, GDMS – масс-спектрометрия с тлеющим разрядом, NAA – нейтронный активационный анализ

положить, что указанная особенность выполнена, тогда наименьший размер образца, подвергаемый анализу, определяется величиной суммарного выхода данной методики или, другими словами, количеством атомов, которые не детектируются во время измерений. Графическое изображение подобных «потерь» для трех методик (AMS, SIMS, ICP-MS) приведено на рис. 13. Считается, что образец бе-

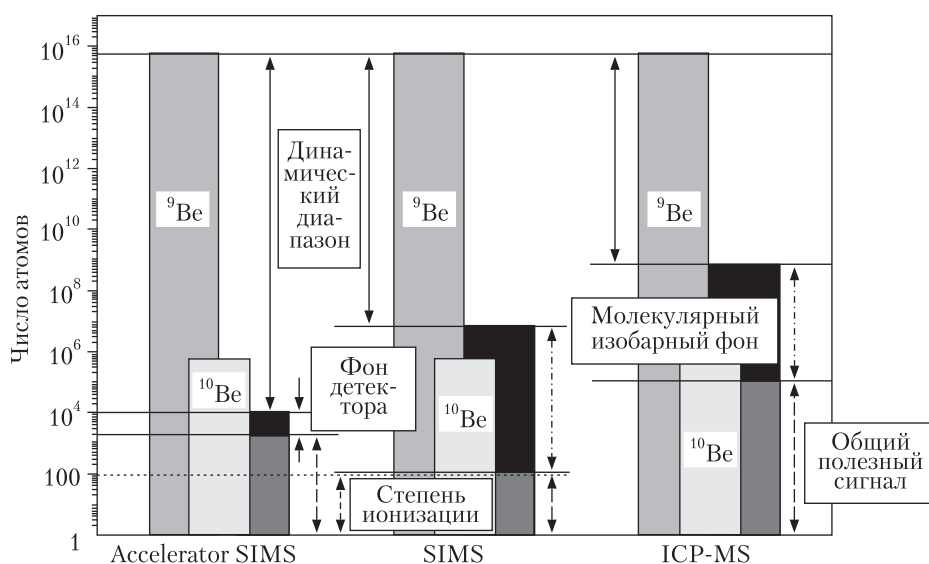


Рис. 13. Сравнительный анализ образцов бериллия тремя методами: AMS, SIMS и ICP-MS. Для каждого метода указан динамический интервал, зависящий от потерь в чувствительности, что, в свою очередь, обусловлено суммарным полезным выходом (overall useful yield), фоном детектора (detector background) и молекулярными и изобарными ионами (molecular and isobaric interferences) [16]

риллия весом 100 нг ($6,6 \times 10^{15}$ атомов) с изотопной распространенностью ^{10}Be , равной 10^{-10} ($6,6 \times 10^5$ атомов), подготовлен к анализу наилучшим образом. Тогда для SIMS-технологии главные потери обусловлены низким выходом в процессе распыления образца. Потери, связанные с прохождением ионов через масс-спектрометр как для SIMS, так и для УМС-технологий незначительны и составляют 10–15%. Дальнейшее снижение чувствительности метода определяется фоном детектора, который для УМС ниже по сравнению с двумя другими методами (см. рис. 13). Комбинация суммарного выхода ионов и сигналов фона и определяет наименьший предел динамического диапазона, в котором данная аналитическая методика может измерять редкий изотоп, в данном конкретном случае — радиоизотоп ^{10}Be .

Что касается ICP-MS-технологии, приведенной также на рис. 13, то ее нельзя, вообще говоря, прямо сравнивать с AMS и SIMS ввиду принципиально иного процесса формирования аналитического сигнала. При данной методике образец обычно растворяют в слабой кислоте, транспортируют в распылитель (пе-

buliser), с помощью которого происходит его распыление в среду газа-носителя (обычно, аргона). Далее образец попадает в плазму с небольшой примесью аргона. В случае анализа бериллия с использованием данной методики возникает еще одна проблема, а именно: в масс-спектре присутствуют одновременно ионы двух элементов ($^{10}\text{Be}^+$ и $^{40}\text{Ar}^{4+}$) с одним и тем же массовым числом, что сказывается на пределе детектирования метода. Исследования показывают, что при максимальной солености раствора образца (10 мг/мл), наименьшее отношение $^{10}\text{Be}/^{9}\text{Be}$, полученное с помощью ICP-MS, равно 10^{-7} [16]. Другими словами, данная методика не пригодна для измерения природных отношений изотопов бериллия. Все же, справедливости ради следует отметить, что в ряде случаев возможно получение данным методом пределов детектирования на уровне fg/g. Однако главное достоинство ICP-MS-технологии состоит в возможности проведения анализов вакуумно-несовместимых образцов, например жидких включений в минералах, используя лазерную абляцию (LA-ICP-MS).

6. ВЫВОДЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ

Из вышеизложенного следует, что ускорительная масс-спектрометрия как физический метод изотопного анализа веществ с уникальной чувствительностью является на сегодняшний день общепризнанной и достаточно хорошо отработанной аналитической методикой. Однако весь потенциал УМС еще далеко не использован. Поэтому данная технология находится в процессе постоянного технического усовершенствования как уже существующих инструментов, так и в создании новых, в том числе малогабаритных конструкций ускорительных масс-спектрометров. В результате это приведет к улучшению точности анализов и расширению областей применения. Поэтому предсказать, какие открытия ждут ученых в ближайшие 2–3 года при использовании технологии УМС, никто не берется. Все же можно ожидать, что появление новых лабораторий ускорительной масс-спектрометрии и новых приложений в таких сферах, как окружающая среда, биология и медицина неуклонно будет расти благодаря бесценным аналитическим возможностям метода. Нет сомнения в том, что первая подобная лаборатория в ближайшее время начнет функционировать и в Украине для решения многих актуальных проблем, имеющих отношение к энергетике, медицине, новым лекарственным препаратам, экологии окружающей среды, нанотехнологиям и многим другим научным направлениям.

К моменту выхода обзора в печать, Институт прикладной физики НАН Украины в рамках программы централизованного приобретения импортных научных приборов и оборудования за счет бюджетных средств НАН Украины получил ускорительный масс-спектрометр Tandetron 1.0 MV модель 4110B0-AMS, фирмы HVEE (Голландия) и уже приступил к работам по его установке и наладке.

Автор выражает искреннюю признательность академику НАНУ Сторижко В.Е. за инициацию написания вышеизложенного материала и полезную дискуссию.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Kutschera W.* Progress in isotope analysis at ultra-trace level by AMS. *International Journal of Mass Spectrometry*, 242 (2005). — P. 145–160.
2. *Kutschera W., Müller W.* «Isotope language» of the Alpine Iceman investigated with AMS and MS. *Nuclear Instruments and Methods B*, 204 (2003). — P. 705–719.
3. *Purser K.H., Smick T.H., Purser R.K.* A precision ^{14}C accelerator mass spectrometer. *Nuclear Instruments and Methods B*, 52 (1990). — P. 263–268.
4. *Straume T. et al.* Measuring fast neutrons in Hiroshima at distances relevant to atomic-bomb survivors. — *Nature*. — vol. 424 (2003). — P. 539–542.
5. *Pierce D.A. et al.* Studies of the mortality of atomic bomb survivors. *Radiation Research* 146 (1996). — P. 1–27.
6. *Walner A. et al.* ^{41}Ca — a possible neutron specific biomarker in tooth enamel. — *Nuclear Instruments and Methods B*. — 223-224 (2004). — P. 759–764.
7. *Рувкина Е.М. и др.* Метан в вечномёрзлых отложениях северо-восточного сектора Арктики. — *Криосфера Земли*. — 2006. — Т. 10, № 3. — P. 23–41.
8. *Wild E.M. et al.* ^{14}C dating with the bomb peak: An application to forensic medicine. *Nuclear Instruments and Methods B*. — 172 (2000). — P. 944–950.
9. *Buraglio N.*, 2000, Accelerator Mass Spectrometry of ^{129}I and Its Applications in Natural Water Systems. *Acta Universitatis. Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Science and Technology* 570.53 pp. Uppsala, ISBN 91-554-4819-4.
10. *Garner R.C. et al.* Comparative biotransformation studies of MeIQx and PhIP in animal models and humans. — *Cancer Letters*. — 143 (1999). — P. 161–165.
11. *Freeman S.P.H.T. et al.* The study of skeletal calcium metabolism with ^{41}Ca and ^{45}Ca . *Nuclear Instruments and Methods B*, — 172 (2000). — P. 930–933.
12. *Turteltaub K.W. et al.* Accelerator mass spectrometry in biomedical dosimetry: relationship between low-level exposure and covalent binding of heterocyclic amine carcinogens to DNA. *Proceedings of National Academy of Sciences of USA*. — 87 (1990). — P. 5288–5292.
13. *Kautiainen A., Vogel J.S., Turteltaub K.W.* Dose-dependent binding of trichloroethylene to hepatic DNA and protein at low doses in mice, *Chemico-Biological Inter.* — 106 (1997). — P. 109–121.
14. *Guo Zhiyue et al.* Development of Accelerator Mass Spectrometry in China, *Proceedings of the Second Asia Pacific Accelerator Conference*, Beijing, China. — P. 2001.
15. *Burri D.J., Clifford A.J.* Carotenoid and retinoid metabolism: Insights from isotope research, *Archives in Biochemistry and Biophysics* (2004) 430. — P. 110–119.
16. *Maden C.* The potential of accelerator mass secondary ion mass spectrometry in environmental sciences, *A dis-*

sertation submitted to the Swiss Federal Institute of Technology Zurich, 2003.

17. Hollmeyer K., Altmeyer W., Heinzle E., Pitra C. Species identification of Oetzi's clothing with matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry based on peptide pattern similarities of hair digests, *Rapid Communications in Mass Spectrometry* (2008) 22. – P. 2751–2767.

Л.Ф. Суходуб

ЗАСТОСУВАННЯ ПРИСКОРЮВАЛЬНОЇ МАС-СПЕКТРОМЕТРІЇ В ЕКОЛОГІЧНИХ І МЕДИКО-БІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕННЯХ

Розглянуто принципи прискорювальної мас-спектрометрії (ПМС), розвиток техніки ПМС, особливості пробопідготовки і використання ПМС для датування за допомогою радіоізоотопу ^{14}C , для дослідження різних екологічних об'єктів та медико-біологічних досліджень з використанням радіоізоотопів. Проведено порівняння ПМС з іншими аналітичними методами.

Ключові слова: прискорювальна мас-спектрометрія, екологія, медицина, оточуюче середовище, датування, ізоотоп ^{14}C .

L.F. Sukhodub

APPLICATION OF ACCELERATOR MASS SPECTROMETRY IN ECOLOGICAL, MEDICAL AND BIOLOGICAL INVESTIGATIONS

The paper covers the principles of the accelerator mass spectrometry (AMS), development and history of AMS method, peculiarities of sample preparation and AMS application for dating of samples using radioisotope ^{14}C , in the investigation of various environmental objects as well as medical and biological investigations with radioisotopes application. The comparison of AMS with other analytical techniques is made.

Key words: accelerator mass spectrometry, ecology, medicine, environment, dating, ^{14}C isotope.

Надійшла до редакції 24.04.09