УДК 543.429:57.08

ИССЛЕДОВАНИЕ ЭЛЕМЕНТНОГО СОСТАВА БИОЛОГИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ МЕТОДАМИ ФОТОЭЛЕКТРОННОЙ И РАДИОНУКЛИДНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

[1]Реуцкая Н.С.*, [1]Калажоков Х.Х., [1,2]Гангапшев А.М., [1]Коков З.А., [1]Жиляева К.Б., [3]Дышеков А.Х.

[1]Кабардино-Балкарский государственный университет им. Х.М. Бербекова
[2]Баксанская нейтринная обсерватория Института ядерных исследований Российской академии наук
[3]Кабардино-Балкарский государственный аграрный университет им. В. М. Кокова

**_natalie@mail.ru*

Аннотация. *Разработана методика подготовки и исследования элементного состава биологических материалов методом рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии. Показана возможность измерения содержания радионуклидов в биологических материалах с помощью низкофоновой гамма-спектрометрии.*

Ключевые слова: элементный состав, метод РФЭС, радионуклиды, гамма-спектр, низкофоновый, биологический материал

STUDY OF THE ELEMENTAL COMPOSITION OF BIOLOGICAL MATERIALS BY METHODS OF PHOTOELECTRON AND RADIONUCLIDE SPECTROSCOPY

[1]Reutskaya N.S., [1]Kalazhokov Kh.Kh., [1,2]Gangapshev A.M., [1]Kokov Z.A., [1]Zhiliyeva K.B., [3]Dishekov A.Kh.

[1]Kabardino-Balkarian State University
[2]Baksan Neutrino Observatory of the Institute of Nuclear Research of the Russian Academy of Sciences
[3]Kabardino-Balkarian State Agrarian University

Abstract. *A method for preparing and studying the elemental composition of biological materials using X-ray photoelectron spectroscopy has been developed. The possibility of measuring radionuclide content in biological materials using low-background gamma spectrometry has been demonstrated.*

Keywords: elemental composition, XPS method, radionuclides, gamma spectrum, low-background, biological material

Знание элементного состава биологических материалов (БМ) критически важно, так как элементы формируют биомолекулы и участвуют в метаболизме, позволяя изучать клеточные процессы, понимать биогеохимические циклы и разрабатывать новые лекарственные препараты и др. [1, 2]. В работе предложена методика подготовки и исследования биологических материалов методами фотоэлектронной и радионуклидной спектроскопии.

1. Исследование элементного состава биологических материалов электронно-спектроскопическими методами

Выбор методов исследования элементного состава биологических материалов

В литературе встречаются решения задачи по определению элементного состава биологических материалов методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (АЭС ИСП) [3, 4] или методом рентгенофазового анализа (РФА) [5]. Эти методы дают усредненные значения концентраций определяемых компонентов по всему объему БМ. Известно, что состав поверхностного

слоя может значительно отличаться от состава объема [6, 7]. Для разрешения вопроса о распределении компонентов между объемом и поверхностью изучаемого объекта в настоящее время разработаны уникальные методы – электронная Оже-спектроскопия (ЭОС), рентгеновская фотоэлектронная спектроскопия (РФЭС) [8], которые достаточно чувствительны к состоянию поверхностного слоя [9]. Толщина анализируемого слоя при этом около 3-5 нм в случае металлических и около 100 нм для органических материалов [8, 9].

Однако указанные выше методы применимы в условиях сверхвысокого вакуума и позволяют работать с объектами, которые не разлагаются под воздействием зондирующего пучка (электронного или фотонного), возбуждающего электронную подсистему вещества [8,9]. Из двух методов ЭОС или РФЭС наиболее простым и предпочтительным (неразрушающим) является метод РФЭС [8, 9]. Он весьма эффективен при исследовании элементного состава поверхности металлов, сплавов, полупроводниковых и диэлектрических материалов [7–9].

Тем не менее, возникают трудности при изучении БМ, в которых содержатся много воды и различного рода органических веществ, легко испаряющихся в вакууме [10]. В связи с этим была поставлена задача – разработать методику подготовки БМ, позволяющую его исследовать одним из электронно-спектроскопических методов, например, таким как РФЭС. В качестве объекта исследования нами был выбран конский волос.

Методика подготовки биологического материала для исследования методом РФЭС

Для исследования конского волоса методом РФЭС нами была разработана и реализована оригинальная методика подготовки образца, включающая следующие этапы.

1. Промывка волоса теплой водой с температурой 30 °С.
2. Сушка волоса на воздухе в течение 2-х часов.
3. Загрузка образца в специальную вакуумную камеру и его сушка до достижения разрежения в камере ~ 10^{-2} Па.
4. Перезагрузка образца в предварительную камеру РФЭ спектрометра и откачка камеры до вакуума ~ 10^{-5} Па.
5. Перезагрузка образца из камеры загрузки спектрометра в камеру анализатора и откачка камеры до рабочего вакуума ~ 10^{-7} Па.

Скан конского волоса из гривы, полученный с помощью зондового микроскопа Solver Pro 47 в полуконтактном режиме сканирования [11], показал, что наружный слой состоит из нескольких слоев чешуйчатых ороговевших кутикулярных клеток. При этом средняя толщина сканированного волоса из гривы составила порядка 25 микрон, а чешуйки имеют высоты до нескольких микрон [12].

Результаты определения элементного состава поверхности биологических материалов

Условия измерения РФЭ спектров

Остаточное давление в камере спектрометра около 10^{-9} мбар, температура образца 20 ºС, энергия возбуждающего монохроматического рентгеновского излучения 1486,6 эВ, энергия ионов аргона 600 эВ, ток ионного пучка аргона 2 мА. Сечение (диаметр) возбуждающего рентгеновского пучка на поверхности образца – около 30 мкм [10], что сравнимо с диаметром конского волоса (25 мкм) [11]. Корректировку зарядового смещения энергии связи фотоэмиссионной (ФЭ) линии осуществляли по положению ФЭ линии компонента [8, 9, 13], соответствующего состоянию sp^2-гибридизированного углерода с энергией связи 284,8 эВ. Для определения площадей под пиками использовался метод подгонки функции Войта [14]. Калибровка спектрометра осуществлялась с использованием линий: Au $4f_{7/2}$ – 83,96 эВ, Cu $2p_{3/2}$ – 932,62 эВ, Ag $3d_{5/2}$ – 368,21 эВ.

Результаты измерений элементного состава поверхностного слоя биологических материалов методом РФЭС

На *рисунке 1* представлен обзорный РФЭ-спектр поверхности конского волоса, измеренный спектрометром K-Alpha (фирмы «Thermo Fisher Scientific», Великобритания) [14].

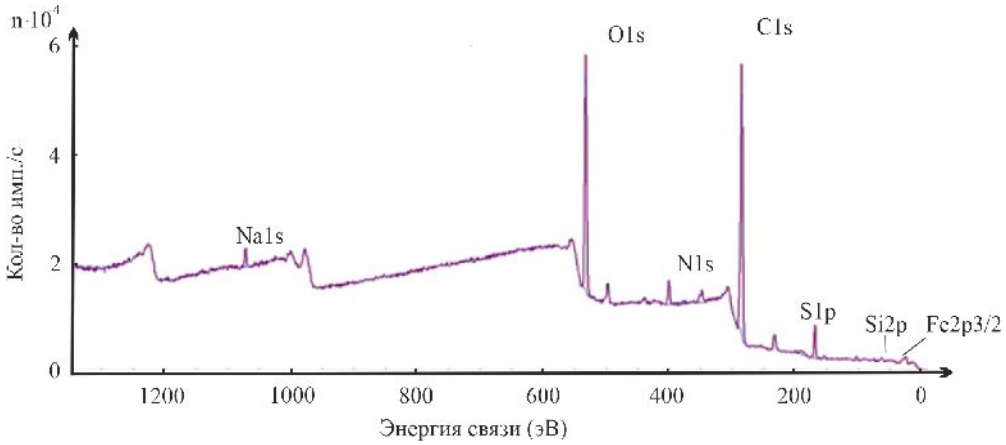

Рисунок 1 – Обзорный РФЭ-спектр поверхности конского волоса до очистки ионным (Ar^+) пучком

Визуальное сравнение двух спектров (*рисунки 1, 2*) показывает значительное влияние облучения поверхности конского волоса ионным пучком на его элементный состав. Так, например, во втором спектре после 5-минутной очистки поверхности ионным пучком значительно уменьшились пики металлов Fe, Na, Al и K.

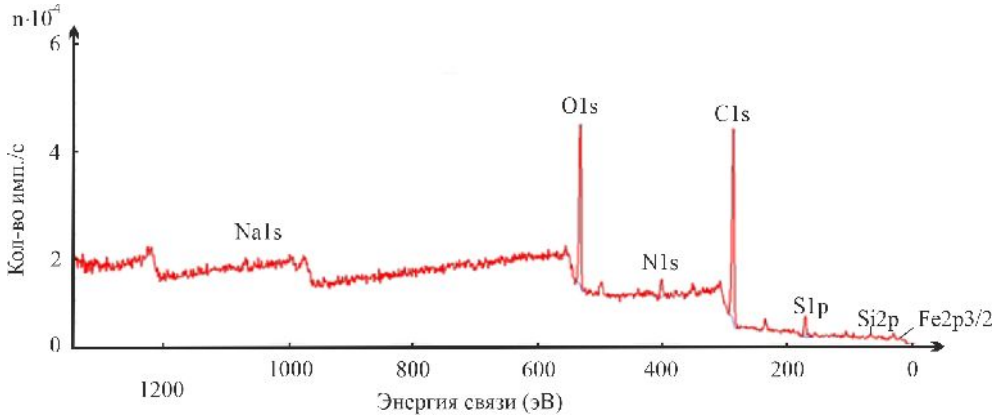

Рисунок 2 – Обзорный РФЭ-спектр поверхности конского волоса после 5-минутной очистки ионным (Ar^+) пучком

Из анализа обзорных РФЭ-спектров (см. *рисунки 1, 2*) получено, что на поверхности присутствуют следующие элементы (*таблица 1*).

Таблица 1 – Обнаруженные на поверхности конского волоса химические элементы и их концентрации

Элемент	**N**	**C**	**O**	**S**	**B**	**Ca**	**Fe**	**Na**	**Si**	**Al**	**Cl**	**K**
Содержание, ат. %, АЭС (из литературы [7–9]	16,8	49,6	23,2	4,0	–	–	–	–	–	–	–	–
Содержание ат. %. РФЭС (до очистки поверхности	3,95	60,77	22,27	3,72	5,53	0,73	0,12	0,79	0,68	0,31	0,13	0,98
Содержание ат. %. РФЭС (после 20-минутной очистки поверхности)	4,25	67,73	23.47	4,56	–	–	–	–	–	–	–	–

Здесь же представлены результаты изучения элементного состава конского волоса методами атомно-эмиссионной спектроскопии (АЭС – первая строка *таблицы 1*) и методом РФЭС (вторая и третья строки *таблицы 1*).

Обсуждение результатов

Из анализа полученных результатов видно, что основными структурными элементами конского волоса являются азот, углерод, кислород и сера, что подтверждает его органическую природу [15].

Количество азота, определенное методом АЭС, примерно в 4 раза больше, чем количество азота, определенное методом РФЭС, что, по-видимому, связано с разными условиями определения составов конского волоса. В случае АЭС образец находится в воздушной среде [3, 4] (азотной), а в случае РФЭС – образец подвергается глубокой дегазации (см. п. 2 предложенной методики подготовки конского волоса). В результате в образце остается структурный азот, а растворенный откачивается насосом. Таким образом, из полного содержания азота в конском волосе (16,8 %) примерно 3/4 уходит при дегазации, а 1/4 остается как структурный компонент конского волоса, что вполне реально [3–5].

В образце помимо структурных элементов обнаружены примеси: B, Ca, Fe, Na, Si, Al, Cl, K. Содержание этих элементов резко снижается после ионной очистки поверхности, что свидетельствует о том, что изначально они находились на поверхности, а при ионной бомбардировке покинули поверхность. Вероятно, Ca, Si, Al попали на поверхность из почвы (пыли) [10], металлы K, Fe, Na – из пищи (корма) [1, 2, 10], а Cl – из питьевой воды с хлорированием [13]. Источник B пока не установлен.

Выводы

1. Предложена и отработана методика подготовки БМ для изучения методом РФЭС.

2. Совместное использование методов АЭС и РФЭС позволяет разделить обнаруженные элементы на: 1) структурные, образующие материал конского волоса и 2) вторичные, загрязняющие исследуемый конский волос и улетучивающиеся при очистке поверхности ионным пучком.

3. В объеме конского волоса содержится значительное количество азота, большая часть которого выделяется при дегазации и откачивается насосами.

4. Основными структурными элементами конского волоса являются азот, углерод, кислород, сера. Загрязняющими поверхность волоса элементами являются остальные элементы за исключением бора и кальция. Роль последних двух элементов пока не установлена. Для более точного решения этой задачи необходимо определить элементный состав объемной части конского волоса.

5. В дальнейшем представлялось бы целесообразным провести исследование распределения элементов по длине волосяного стержня лошади с учётом хронологического порядка роста. Полученные данные могли бы способствовать реконструкции динамики развития патологического процесса у животного.

2. Радионуклидный анализ состава биологических материалов

Для изучения загрязнения БМ (конского волоса) радионуклидами было проведено измерение на низкофоновом полупроводниковом детекторе (ППД) из сверхчистого германия, расположенного внутри пассивной защиты, состоящей из ~20 см меди, ~15 см свинца и ~8 см борированного полиэтилена. Установка расположена в подземной лаборатории Баксанской нейтринной обсерватории Института ядерных исследований (БНО ИЯИ) РАН. В обсерватории имеется несколько сверхнизкофоновых гамма-спектрометров на основе ППД из сверхчистого германия, используемых для измерения удельной активности радионуклидов в различных образцах [16-19]. Вес образца и время измерений (экспозиции) показаны в *таблице 2*. Схематический вид установки показан на *рисунке 3*.

Таблица 2 – Исходные параметры образца волос

Год рождения лошади	Масса в таре для измерений, г	Время измерений, ч
2011	12	70

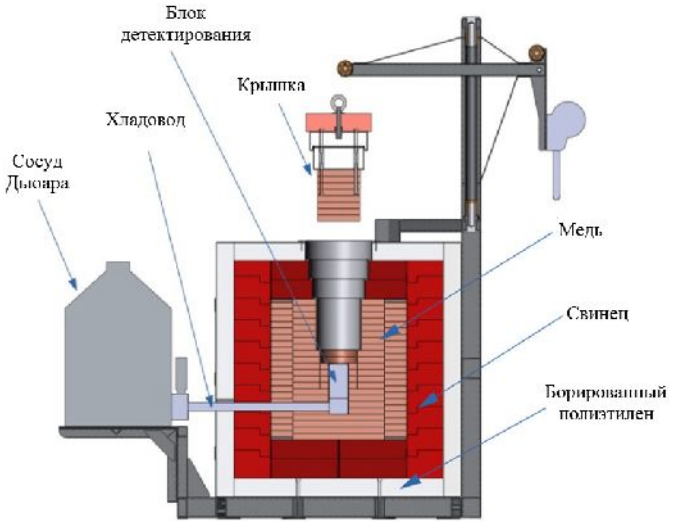

Рисунок 3 – Схематический вид низкофонового гамма-спектрометра в пассивной защите

Расчет эффективности регистрации γ-квантов от распадов радионуклидов производился с помощью программного пакета МСС-МТ, внесенного в Единый реестр российских программ для ЭВМ (https://www.radek.ru/product/Programmnoe-obespechenie/84/), входящий в комплект поставки низкофоновых гамма-спектрометров. МСС-МТ предназначено для имитационного трехмерного моделирования процессов переноса и регистрации ионизирующих излучений (метод Монте-Карло) при калибровке спектрометрических, радиометрических и дозиметрических средств измерений по эффективности регистрации. МСС-МТ осуществляет расчет функции отклика (с учетом каскадных процессов) для детекторов, облучаемых источниками фотонов, электронов (позитронов) или тяжелых заряженных частиц в диапазоне энергий от 10 до 10 МэВ. Для определения эффективности регистрации гамма-квантов, излучаемых образцами, в МСС-МТ разыгрывалось 10^6 распадов соответствующих изотопов в образцах. В случае U-238, U-235 и Th-232 разыгрывалась вся цепочка распадов. Так как масса образца волос составила 12 г, эффектом самопоглощения в образцах можно пренебречь. Результаты расчетов показаны в *таблице 3*. Помимо примордиальных радиоизотопов, расчеты проводились и для космогенного изотопа Be-7 и техногенного Cs-137.

По результатам измерений были получены спектры гамма-квантов от образцов. В качестве примера на рисунке 4 показан спектр образца в сравнении с собственным фоном ППД. На нем видны пики от гамма-квантов при энергиях 186.2, 295.2, 351.9, 477.6, 609.3, 661.7, 1460.8 и 2614.5 кэВ. Соответствующие изотопы указаны в *таблице 3*. Далее определялось количество событий в пиках полного поглощения за вычетом собственного фона ППД, а затем с учетом эффективности регистрации гамма-квантов высчитывалась удельная активность изотопа в образцах.

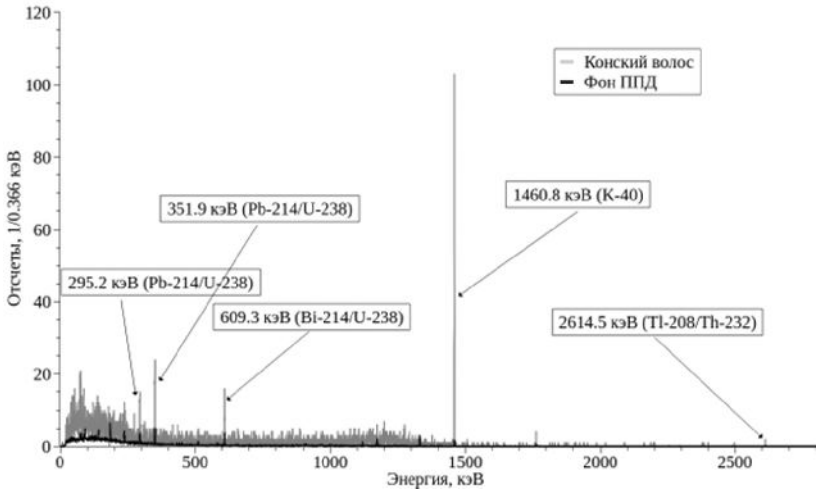

Рисунок 4 – Спектр гамма-квантов от образца конского волоса в сравнении со спектром фона ППД

Таблица 3 – Количество регистрируемых γ-квантов от образцов конского волоса на 10^6 распадов изотопа (в случае цепи распадов – на один распад начального изотопа цепи), по результатам расчетов в МСС-МТ

Гама-линия, кэВ (изотоп/цепь распадов)								
477,6 (Be-7)	1460,8 (K-40)	186,2 (Ra-226/U-238)	351,9 (Pb-214/U-238)	295,2 (Pb-214/U-238)	609,3 (Bi-214/U-238)	185,7 (U-235/U-235)	143,8 (U-235/U-235)	236,0 (Th-227/U-235)
Расчетное количество регистрируемых гамма-квантов на 10^6 распадов								
2873	1096	2621	14211	8832	10251	37818	8078	
Гама-линия, кэВ (изотоп/цепь распадов)								
911,2 (Ac-228/Th-232)	969,0 (Ac-228/Th-232)	338,3 (Ac-228/Th-232)	238,6 (Pb-212/Th-232)	2614,5 (Tl-208/Th-232)	583,2 (Tl-208/Th-232)	510,8 (Tl-208/Th-232)	860,6 (Tl-208/Th-232)	661,7 (Cs-137)
Расчетное количество регистрируемых гамма-квантов на 10^6 распадов								
4022	2316	4550	23709	2170	7124	2261	746	19177

Удельная активность радионуклидов определялась по формуле

$$A = \frac{10^6}{k} \cdot \frac{S}{t \cdot m},$$

где A – удельная активность радионуклида [Бк/кг], k – расчетное количество регистрируемых гамма-квантов на 10^6 распадов, S – количество событий в пике, t – время измерения [с], m – масса образца [кг].

Результаты определения удельной активности радионуклидов в образцах волоса показаны в *таблице 4*. При этом принималось, что цепочки распадов U-238, U-235 и Th-232 находятся в равновесии. Из данных видно, что в волосах обнаружено содержание природных (примордиальных) радионуклидов U-238, Th-232 и K-40. Наличие техногенного Cs-137 в образце не обнаружено.

Таблица 4 – Измеренные удельные активности радионуклидов в образцах конского волоса

	Радионуклид					
Образец	Be-7	K-40	Th-232	U-235	U-238	Cs-137
	Удельная активность, Бк/кг					
Конский волос	–	152±7	0,15±0,10	–	1,6±0.2	–

Заключение

Анализ состава конского волоса выявил преобладание углерода, кислорода, азота, бора и серы, что указывает на его органическое происхождение. Вероятно, источником серы служит окружающая среда. Среди металлов доминируют натрий и калий, кальций и кремний также имеют естественное происхождение. Также обнаружены следы алюминия и железа в количествах, не превышающих природный уровень.

Особое внимание привлекает присутствие хлора на поверхности волоса. Возможным источником хлора может являться хлорированная питьевая вода, используемая в регионе.

Анализ химического состава волосяных покровов лошадей свидетельствует о благоприятном состоянии окружающей среды на территории сбора проб. Применение электронного спектрометра K-Alpha в сочетании с разработанной методикой подготовки и исследования образцов может быть признано эффективным инструментом для оценки экологической обстановки в Кабардино-Балкарской Республике.

Исследование показало возможность оценки уровня загрязнения организма лошади радионуклидами посредством измерения их удельной активности в волосах животного с использованием низкофонового гамма-спектрометра.

Применение данного метода позволяет определять содержание радионуклидов в образцах весом 12 грамм на уровне долей Бк/кг.

Библиография

1. Степанова М.В., Логинова М.О., Хуштов З.С. Особенности накопления микро-и макроэлементов в конском волосе в зависимости от рациона кормления лошадей // Вестник АПК Верхневолжья. 2024. № 1. С. 74–81.

2. Уша Б.В., Андрианова Т.Г. Накопление радионуклидов в организме сельскохозяйственных животных и птиц // Успехи современного естествознания. 2006. № 3. С. 71–72.

3. Томпсон М., Уолш Д.Н. Руководство по спектрометрическому анализу с индуктивно-связанной плазмой. М.: Недра, 1988. 288 с.

4. Галева Э.И., Холин К.В., Нефедьев Е.С. Возможности атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой // Вестник технологического университета. 2025. Т. 16, № 9. С 15–20.

5. Васильев Е.К., Нахмансон М.М. Качественный рентгенофазовый анализ Новосибирск: Наука, 1986. 200 с.

6. Зенгуил Э. Физика поверхности / под ред. Киселева В.Ф. М.: Мир, 1990. 536 с.

7. Русанов А.И. Фазовые равновесия и поверхностные явления. Л.: Химия, 1967. 388 с.

8. Бриггс Д., Сих М.П. Анализ поверхности методами Оже- и рентгеновской фотоэлектронной спектроскопии. М.: Мир, 1987. 600 с.

9. Вудраф Д., Делчар Т. Современные методы исследования поверхности. М.: Мир, 1989. 568 с.

10. Спектрометры фотоэлектронные многофункциональные K-Alpha https://all-pribors.ru/docs/-2012-51588-12.pdf

11. Плескова С.Н. Атомно-силовая микроскопия в биологических и медицинских исследованиях. Долгопрудный: Интеллект, 2011. 184 с.

12. Ибраев М.В. Эколого-морфологическая характеристика волосяного покрова у лошадиных (Equidae): дис… канд. биол. наук. М. 2013. 122 с.

13. Cris B. Vincent / Handbooks of Monochromatic XPS Spectra. V. 1 and 2. 2004. P. 515 and P. 452.

14. Калажоков З.Х., Калажоков Х.Х., Керефова З.М. Основы компьютерной обработки результатов электронно-спектроскопических измерений: Нальчик: Каб.-Балк. ун-т, 2022. 95 с.

15. Davidovits Paul. Physics in biology and medicine. Academic Press, Elsevier, 2008. 328 p.

16. Ahmatov Z.A., Gangapshev A.M., Romanenko V.S., Khokonov A.Kh., Kuzminov V.V. Low-Background Method of Isotope Markers for Measuring the Efficiency of Intercalation of Graphite by Potassium Atoms // Physics of Particles and Nuclei. 2018. V. 49. P. 787–792.

17. Mollaeva M.Z., Tembotova F.A., Gangapshev A.M., Kazalov V.V., Gezhaev A.M. Radionuclide Content in Needles of Pinus sylvestris L. in the Karachay-Cherkess Republic (Western Caucasus) // Biology Bulletin. 2025. V. 51. P. 3602–3608.

18. Tembotov R., Gangapshev A., Gezhaev A., Abakumov E. Specific Activity of Radionuclides in Cryoconite Sediments of Glaciers of the Central Caucasus (Tsey, Skazka, Bezengi), Russia // Earth. 2025. V. 6. N 2. P. 60.

19. Zykova M., Voronina E., Chepurnov A., Leder M., Kornilova M., Tankeev A., Vlasov S., Chub A., Gangapshev A., Gezhaev A., Tekueva D., Avetisov I. The Study of Radioactive Contaminations within theProduction Processes of Metal Titanium for Low-Background Experiments // Materials. 2024. V. 17. P. 832–840.