

ЛЕКЦИЯ 8. Радиометрические методы анализа

1. Природа радиоактивности. Типы радиоактивного распада. Единицы радиоактивности
2. Применение радиоизотопов в биологических исследованиях
3. Регистрация и измерение радиоактивности
4. Определение радиоактивности на практике и анализ данных

1. Природа радиоактивности. Типы радиоактивного распада. Атом состоит из положительно заряженного ядра, окруженного облаком отрицательно заряженных электронов. Практически вся масса атома сосредоточена в ядре. Ядро состоит из двух основных компонентов — *протонов* и *нейтронов*. Протон — это положительно заряженная частица с массой в 1850 раз большей, чем масса электрона. Поскольку число протонов в ядре равно числу электронов, атом всегда электрически нейтрален. Число протонов в атоме называется *атомным номером Z*. Нейтрон — это незаряженная частица, масса которой приблизительно такая же, как у протона. Сумма протонов и нейтронов в ядре называется *массовым числом A*:

$$A = Z + N,$$

где N — число нейтронов.

Поскольку число нейтронов в ядре не связано с атомным номером, нейтроны мало влияют на химические свойства атомов. Атомы данного элемента не обязательно содержат одинаковое число нейтронов, т. е. могут отличаться массовым числом; такие атомы называются *изотопами*. Обычно атомы элементов обозначают так: записывают символ элемента, сверху пишут массовое число, а внизу — атомный номер, например: ${}^{12}_6\text{C}$, ${}^{14}_6\text{C}$, ${}^{16}_8\text{O}$, ${}^{18}_8\text{O}$.

Число изотопов у разных элементов сильно варьирует. Так, у водорода имеется три изотопа, ${}^1\text{H}$, ${}^2\text{H}$, ${}^3\text{H}$, у углерода — семь, от ${}^{10}\text{C}$ до ${}^{16}\text{C}$, а у некоторых элементов с большим атомным номером — более 20.

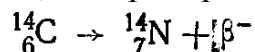
Как правило, среди всех изотопов элемента имеется всего несколько стабильных природных изотопов. Другие изотопы нестабильны и после одного или нескольких распадов превращаются в стабильные. Большинство таких нестабильных *радиоизотопов* получают искусственно, но некоторые из них имеются в природе например ${}^{40}\text{K}$. При распаде радиоизотопы испускают частицы или электромагнитное излучение.

Типы радиоактивного распада

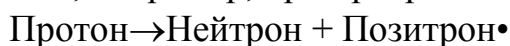
A. Распад с испусканием β^- -частицы (негатрона). В этом случае нейтрон превращается в протон с испусканием отрицательно заряженной β^- -частицы, которую мы будем называть *негатроном*. (β^-):



Негатроны – это в действительности электроны, но названы они так для того, чтобы подчеркнуть их радиоактивное происхождение и одновременно не путать с орбитальными электронами. В биологических исследованиях часто применяется изотоп углерода ^{14}C , который распадается по такой схеме:

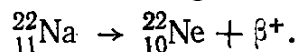


Б. Распад с испусканием позитрона. Некоторые изотопы распадаются с испусканием положительно заряженных β -частиц, называемых *позитронами* (β^+). Позитрон испускается, например, при превращении протона в нейтрон:

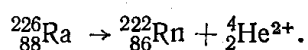


Позитроны – очень нестабильные частицы, которые «живут» короткое время. Потеряв свою кинетическую энергию, они взаимодействуют с электроном и аннигилируют (исчезают), а вместо них появляются два γ -кванта, разлетающихся в противоположные стороны.

Примером такого испускания позитрона служит распад ^{22}Na :



В. Распад с испусканием α -частиц. Изотопы элементов с большим атомным номером часто распадаются с испусканием α -частиц (α -распад). α -Частица — это ядро атома гелия, т. е. она состоит из двух нейтронов и протонов ($^4_2\text{He}^{2+}$). α -Активные изотопы в биологических исследованиях применяются редко. α -Частицы испускает» изотоп ^{226}Ra :



Этот изотоп также неустойчив, и через серию распадов превращается в стабильный изотоп ^{206}Pb .

Г. Распад с испусканием γ -лучей. γ -распад происходит с испусканием электромагнитного излучения с очень маленькой длиной волны, более жесткого, чем рентгеновское. Это обусловлено тем, что γ -лучи возникают из-за изменения структуры ядра, тогда как рентгеновское излучение связано с переходом электронов. γ -Излучение часто сопровождает α - и β -распад. Одно только γ -излучение ядер не меняет ни атомного номера, ни массового числа.

Для измерения **энергии радиоактивного распада** самой распространенной энергетической единицей является *электронвольт* (эВ). Один электронвольт – это энергия, которую приобретает электрон, пройдя разность потенциалов в 1В; $1 \text{ эВ} = 1,6 \cdot 10^{-19} \text{ Дж}$. Распад большинства изотопов сопровождается выделением энергии, для измерения которой используют более крупную единицу – мега-электронвольт; $1 \text{ МэВ} = 10^6 \text{ эВ}$. Обычно самую большую энергию имеют α -частицы, их энергия для разных изотопов варьирует от 4 до 8 МэВ. Энергия β -частиц обычно не превышает 3 МэВ.

Скорость радиоактивного распада. Радиоактивный распад является спонтанным процессом, имеющим характерную для данного изотопа скорость. Количество распавшихся изотопов со временем уменьшается экспоненциально (рис. 1).

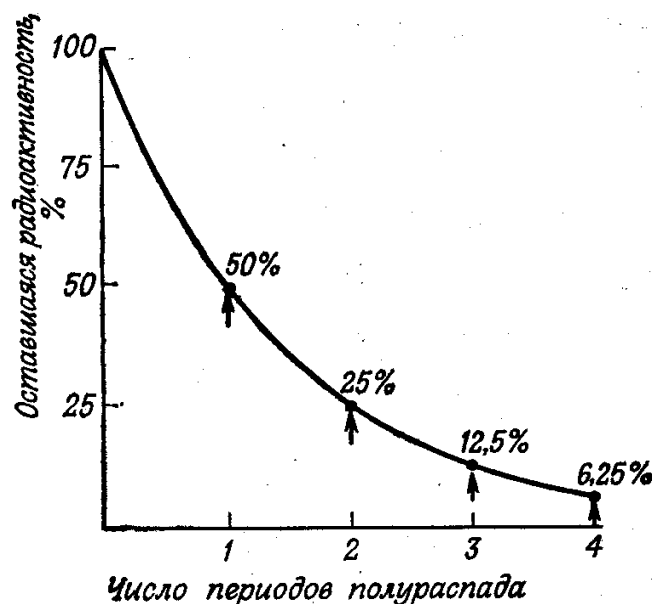


Рисунок 1— Экспоненциальный характер радиоактивного распада

Распад характеризуют *периодом полураспада* $T_{1/2}$, т. е. временем, за которое количество радиоактивных атомов уменьшается вдвое.

Величина $T_{1/2}$ меняется в широких пределах — от 10^{19} лет для радиоактивного свинца (^{204}Pb) до $3 \cdot 10^{-7}$ с для полония (^{212}Po). Время полураспада для изотопов, часто используемых в биологических исследованиях.

Единицы радиоактивности

Кюри (Ки) определяется как такая радиоактивность, при которой в 1 с происходит столько же распадов, сколько в 1 г радия, **а именно: $3,7 \cdot 10^{10}$ расп./с.** В биологических исследованиях пользуются более мелкими единицами: милликюри (мКи), $1 \text{ мКи} = 10^{-3} \text{ Ки}$, и микрокюри (мкКи), $1 \text{ мкКи} = 10^{-6} \text{ Ки}$. Необходимо помнить, что кюри характеризует число распадов в образце, а не число распадов, регистрируемых каким-нибудь методом, например счетчиком, который регистрирует число импульсов в 1 с.

Обычно при работе с радиоактивными изотопами к ним добавляют «носитель» — стабильный изотоп этого же элемента. Активность препарата характеризуют при этом так называемой **удельной активностью** — количеством распадов или импульсов в единицу времени (с, мин) на единицу массы вещества (г или моль), или же кюри (или мКи, мкКи) на единицу массы вещества. Реже пользуются другим выражением удельной активности: числом радиоактивных атомов на 100 атомов препарата.

2. Применение радиоизотопов в биологических исследованиях

1. Исследование путей метаболизма

Радиоизотопы часто применяются для выяснения путей метаболизма различных соединений. Эти исследования обычно проводят по следующей схеме. Сначала добавляют меченое соединение, затем в различные моменты времени извлекают пробы, экстрагируют из них продукты и проводят их хроматографический анализ. Радиоактивность определяют либо сканированием хроматограмм счетчиком Гейгера, либо автордиографически, выдерживая хроматограммы в контакте с рентгеновской пленкой в течение некоторого времени. С использованием радиоактивных соединений можно проверить ту или иную гипотезу о путях метаболизма соединений. Например, можно предсказать судьбу отдельных атомов углерода в цикле трикарбоновых кислот.

Другой пример применения радиоизотопов — установление последовательности работы ферментов при окислении глюкозы. Существует несколько возможных путей окисления глюкозы.

2. Использование радиоизотопов в исследовании поглощения и переноса веществ. Радиоизотопы широко применяются в исследовании механизмов и скорости *поглощения* и *переноса* органических и неорганических соединений животными и растениями. Такие опыты просты в исполнении и являются прямым способом выяснить пути переноса и места усвоения биологически важных молекул.

3. Применение радиоизотопов для определения скорости обмена

С помощью радиоизотопов очень удобно определять скорость обмена соединений. Для примера рассмотрим превращение белков у крыс. Нескольким крысам вводят меченые аминокислоты и выжидают 24 ч; за это время большинство из них включается в состав белков. Затем через определенные интервалы времени крыс умерщвляют и определяют радиоактивность соответствующих органов и тканей. Оказалось, что белки печени обновляются через 7—14 сут, кожи и мышц — за 8—12 нед, а коллаген обновляется менее чем на 10% за год.

4. Использование радиоизотопов в клинике. Радиоизотопы широко применяются в медицине, особенно для диагностических целей. Работа легких исследуется в основном при помощи ^{133}Xe , который применяется для диагноза причины их неправильного функционирования.

Радиоизотопы используются и в гематологии. Сюда входит измерение времени жизни клеток крови, объема крови и времени ее циркуляции, т. е. все те параметры, которые необходимы в клинических исследованиях.

5. Использование радиоизотопов в фармакологии

Другая область, где радиоизотопы также очень широко применяются, — это получение новых лекарственных средств. Например, необходимо определить место и скорость усвоения препарата, скорость метаболизма, а также исследовать все продукты метаболизма. В любом из этих испытаний применение радиоизотопов — большое подспорье, а иногда они просто незаменимы. Например, автордиография полного разреза экспериментального животного дает информацию о месте и скорости усвоения препарата, а стандартные методы метаболического анализа — о скорости метаболизма и его продуктах.

6. Метод изотопного разбавления

В организмах существует много соединений, определить которые обычными методами не удастся, поскольку они присутствуют в крайне малых количествах и в смеси с аналогичными соединениями. В таких случаях незаменимым становится *метод изотопного разбавления*; его преимущество состоит еще и в том, что такой анализ не требует выделения препарата в ощутимых количествах. Пусть, например, требуется определить содержание железа в препарате белка, а обычные методы по тем или иным причинам применить не удастся. В таком случае можно воспользоваться радиоактивным изотопом ^{59}Fe . Его смешивают с белком, затем выделяют железо, определяют его общее количество и радиоактивность.

Если удельная активность введенного железа была 10000 расп./мин на 10 мг, а удельная активность выделенного препарата железа составила 9000 расп./мин на 10 мг, то их разница обусловлена железом (x), содержащимся в белке. Этот метод широко применяется, например, для определения следовых количеств элементов.

7. Определение возраста по радиоактивности

Еще одно интересное применение радиоизотопов — определение с их помощью возраста камней, окаменелостей и осадочных пород. В этом методе предполагается, что содержание в образце элемента, содержащего радиоактивный изотоп, в течение всего времени постоянно. При отвердевании и осаждении породы в ней начинает распадаться изотоп. Определив количество оставшегося радиоизотопа (или же измерив, количество продукта распада) и зная время полураспада, можно определить возраст образца. Пусть, например, известно, что радиоизотоп обычно составляет 1% элемента, а в исследуемом образце его содержание равно 0,25%; следовательно, со времени осаждения прошло два периода полураспада. Если период полураспада $T_{1/2}$ — 1 млн. лет, то образец образовался 2 млн. лет назад.

8. Использование радиоизотопов в экологических исследованиях

Работы с радиоактивной меткой проводятся в основном в биохимических, клинических и фармакологических лабораториях, однако радиоактивные элементы используются также экологами. Особенно удобно при помощи метки исследовать *миграцию* и *поведение* животных. Другое применение этой методики в экологии — исследование *пищевых сетей*, когда

используют радиоактивные продукты, а затем прослеживают всевозможные пути меченого соединения.

9. Применение радиоизотопов для стерилизации пищи и оборудования

Мощные γ -источники широко применяются в настоящее время для стерилизации упакованных продуктов пищевой промышленности (молоко, мясо). Обычно это ^{60}Co и ^{137}Cs . Стерилизацию надо проводить осторожно, чтобы не повредить сам продукт, поэтому часто дозу радиации уменьшают, так что продукт стерилизуется не полностью, но зато практически не портится.

10. Использование радиоизотопов в качестве мутагенов

Радиоизотопы вызывают мутации, особенно в микроорганизмах. При помощи радиоизотопов можно получать микробиологический мутанты с полезными свойствами, например, из радиационных мутантов получают микроорганизмы, которые продуцируют в большом количестве необходимый продукт.

Вопросы техники безопасности

Радиация опасна, но если тщательно соблюдать меры предосторожности, то опасностей не больше, чем при работе с нерadioактивными химическими веществами. Для работы с радиоактивностью надо получать специальное разрешение. Разработаны санитарные требования, предусматривающие ограничения для количества выбрасываемых вместе с твердым мусором и в канализацию вместе с жидкостью радиоактивных отходов.

Предосторожности, которые необходимо соблюдать при работе с радиоактивностью, определяются типом радиоизотопов, но есть и некоторые общие правила безопасности. Например, вся работа с радиоактивностью должна проводиться над подносом, накрытым специальной адсорбирующей бумагой; необходимо работать в резиновых перчатках, в специальной одежде и ни в коем случае не отсасывать жидкость в пипетку ртом.

Взаимодействие излучения с веществом

α -частицы имеют большую энергию (3-8 МэВ), причем у всех частиц данного изотопа она одинакова. α -Частицы взаимодействуют с веществом двояко. Во-первых, они могут *возбудить* атомы вещества. При этом электроны атомов переходят на более высокие энергетические уровни, и энергия α -частиц уменьшается по крайней мере на величину переданной электрону энергии. При возвращении электрона на исходную орбиталь атом испускает квант света в видимой или ближней ультрафиолетовой области. Во-вторых, α -частицы могут вызывать *ионизацию* атома, т. е. полностью «отрывать» от него электрон; при этом появляется пара ион— электрон. Из-за большого размера α -частиц и двойного положительного заряда они часто сталкиваются с атомами. В результате атомы вещества возбуждаются или ионизируются, а α -частицы быстро растрачивают свою энергию. Поэтому, несмотря на

значительную начальную энергию, α -частицы проникают в образец не слишком глубоко.

Негатроны. По сравнению с α -частицами негатроны имеют значительно меньшие размеры и большую скорость: они несут один отрицательный заряд. Как и α -частицы, негатроны могут менять электронные состояния атомов и ионизовать их, но из-за большой скорости и малого размера взаимодействуют с веществом слабее α -частиц, поэтому глубже проникают в образец.

Другое отличие негатронов от α -частиц состоит в том, что испускаемые изотопами негатроны имеют широкое *распределение* по энергиям и все β -радиоактивные изотопы имеют свой характерный *спектр* распределения негатронов по энергиям.

Гамма-лучи – это электромагнитное излучение, кванты, не имеющие ни массы покоя, ни заряда. Они редко сталкиваются с атомами и успевают пройти довольно большое расстояние до того, как растрачат всю свою энергию и, следовательно, глубоко проникают в вещество. Известно восемь способов взаимодействия их с веществом; три из них, являющиеся самыми основными, приводят к появлению *вторичных электронов*, которые затем вызывают возбуждение и ионизацию атомов.

При фотоэлектронном поглощении низкоэнергетические γ -лучи взаимодействуют с орбитальными электронами, затрачивая *всю* свою энергию на фотоэмиссию электрона. Такой электрон уже является негатроном.

3. Регистрация и измерение радиоактивности. Абсолютный и относительный подсчет распадов. Существуют два способа подсчета числа радиоактивных распадов. При *абсолютном подсчете* регистрируются все распады в исследуемом образце, а при *относительном* — определенная часть их. При абсолютном подсчете применяют счетчики, работающие со 100%-ной эффективностью, или определяют эффективность счета по стандартному образцу, а затем вычисляют абсолютное число распадов. При относительном счете предполагается, что все распады регистрируются с одинаковой *эффективностью*. Если при проверке окажется, что это не так, нужно использовать абсолютный подсчет.

Для регистрации радиоактивности используют **три метода**. Два из них количественные и базируются на ионизации газов или возбуждении твердых тел или жидкостей. Третий метод – фотоэмульсионная регистрация – в количественных исследованиях, как правило, не применяется.

1. Методы, основанные на ионизации газов

Влияние напряжения на ионизацию. Заряженная быстро движущаяся частица, проходя вблизи атома, смещает его электронную

оболочку, а иногда даже приводит к ионизации атома. Для рассмотренных частиц ионизирующая способность уменьшается (10000:100:1) в следующем порядке: $\alpha > \beta > \gamma$. Следовательно, для регистрации γ -излучения эти методы не годятся.

Ионизацию можно регистрировать, поместив пару электродов в наполненную газом трубку и приложив к электродам напряжение. Ток в трубке будет расти по мере увеличения числа ионов, образующихся под действием ионизирующей радиации, попадающей в камеру. Такие счетчики в зависимости от величины приложенного напряжения работают в разном режиме (рис. 2).

Режим *ионизационной камеры* отвечает такому напряжению между электродами, когда одно столкновение атома с частицей приводит к появлению одного иона. Возникающий при этом ток небольшой, и для его регистрации нужны чувствительные измерительные приборы.

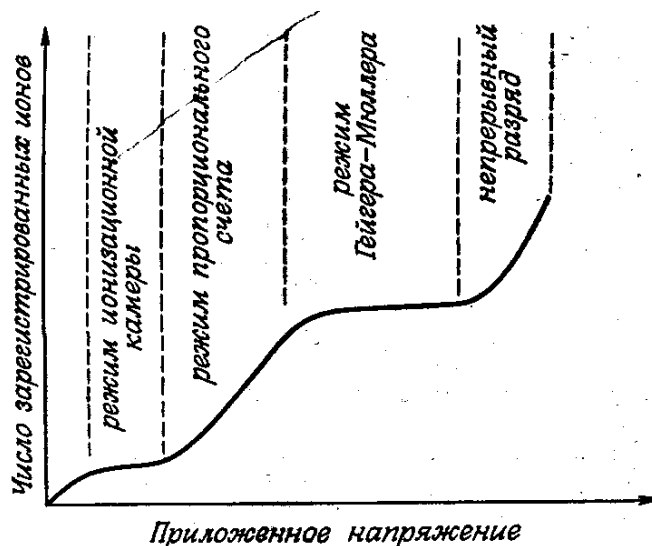


Рисунок 2 – Влияние приложенного напряжения на поток ионов

В количественных исследованиях эти счетчики используются редко, но такие *электроскопы* полезны для демонстрации свойств радиоактивности. При большом напряжении между электродами возникающие при первичной радиационной ионизации электроны ускоряются в электрическом поле так сильно, что способны ионизовать атомы, попадающиеся им на пути движения к аноду. Вторичные электроны также ускоряются и производят дополнительную ионизацию и т.д. Следовательно, одна первичная ионизация приводит к появлению на аноде большого количества электронов. Такое *усиление в газе* носит название *лавинного эффекта Таунсенда* по имени его открывателя. Из-за эффекта усиления ток в газе очень сильно возрастает. Как видно из рис. 7.2, в *режиме пропорциональности* число ионов в трубке (ток) пропорционально напряжению. При дальнейшем увеличении

напряжения достигается плато, когда ток в трубке не зависит от напряжения между электродами. Переходный диапазон напряжений, предшествующий выходу на плато, носит название режима *ограниченной пропорциональности*. В таком режиме количественные исследования проводить некорректно, поэтому останавливаться на нем мы не будем.

Счетчики обычно работают в *режиме пропорциональности*. Основное внимание в таких счетчиках обращается на стабилизацию напряжения, поскольку даже его незначительные колебания существенно меняют усиление.

Режим Гейгера-Мюллера отвечает плато на зависимости тока ионизации от напряжения. Это означает, что появление одного иона приводит к полной ионизации газа; следовательно, в таком режиме счетчик регистрирует все виды ионизирующей радиации, в том числе и β -частицы, и не различает источники радиации, несмотря на то что некоторые из них способны образовать один ион, другие — на много порядков больше.

Поскольку для регистрации распада необходимо, чтобы образовавшийся ион дошел до электрода — а это требует некоторого времени, — то ионы, образующиеся за такой промежуток времени из-за следующих распадов, не регистрируются. Интервал времени, необходимый для регистрации события ионизации, носит название *мертвого времени* счетчика и обычно составляет 100—200 мкс. В пропорциональных счетчиках этот параметр не очень существен, однако для счетчиков Гейгера он играет большую роль, поскольку именно это время определяет полную ионизацию газа — достижение максимального тока. Слабая зависимость от мертвого времени для пропорциональных счетчиков — их основное преимущество при большой скорости счета. При попадании на электрод ионы нейтрализуются, однако некоторые из них минуют электрод и образуют собственную лавину; поэтому в счетчике Гейгера может образоваться *непрерывный разряд*. Для предотвращения такой возможности в трубку добавляют тушитель—газ, уменьшающий энергию ионов. Обычно в качестве тушителей используют этанол, галогены и этилформиат.

Трубки для счетчиков Гейгера—Мюллера довольно разнообразны по конструкции; некоторые из них приведены на рис. 3.

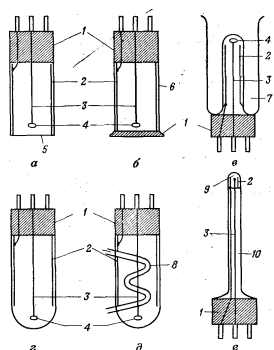


Рисунок 3 - Различные типы трубок счетчиков Гейгера—Мюллера: трубки с торцевым окном (а), тонкостенные трубки (б), кольцевидные (в), тонкостенные погружаемые (г), жидкостнопроточные (д) и трубки игольчатого типа (е).

1—цоколь; 2—металлизированный катод; 3—анод (проволока); 4—стеклянный шарик; 5—торцевое окно (стекло, слюда и т. д.); 6—

тонкая стеклянная или металлическая стенка; 7— объем для жидкого образца; 8— спиральная трубка для образца; 9 — чувствительный объем; 10 — длинная трубка диаметром 4 мм

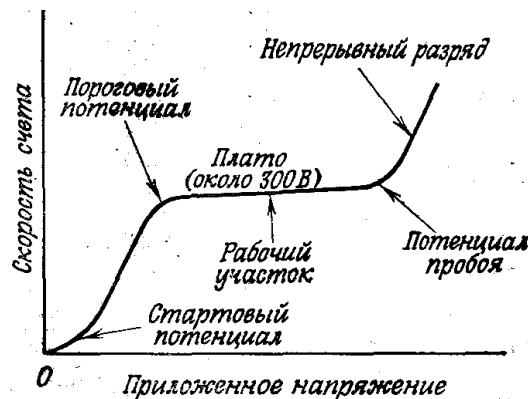


Рисунок 4 – Режим работы счетчика Гейгера—Мюллера

На рис. 4 приведена зависимость скорости счета распадов счетчиком Гейгера-Мюллера от разности потенциалов между электродами.

2. Методы регистрации, основанные на возбуждении

Некоторые соединения при радиоактивном облучении начинают светиться (флуоресцировать). Флуоресценция под действием радиации называется **сцинтилляцией**. Испускаемый сцинтиллятором свет можно регистрировать фотоумножителем, который преобразует световую энергию в электрический сигнал, пропорциональный интенсивности падающего света. Свечение сцинтиллятора в свою очередь определяется энергией радиации. Тот факт, что регистрируемый электрический импульс связан с энергией радиоактивного распада, является основным преимуществом **сцинтилляционных счетчиков** перед счетчиками Гейгера—Мюллера. С их помощью можно измерить отдельно радиоактивность каждого из двух и более изотопов, содержащихся в одной пробе.

Методы сцинтилляционного счета. Существует два основных способа регистрации радиоактивности с помощью сцинтилляторов (рис; 6.5); при одном из них используются твердые, а при другом - жидкие сцинтилляторы. В твердотельных сцинтилляционных счетчиках (внешний сцинтилляционный подсчет распадов) образец помещают в непосредственной близости от кристаллического флуоресцирующего вещества. Для регистрации γ -излучения используется йодистый натрий, α -частиц — в основном сульфид цинка, а для подсчета β -радиоактивности — органические сцинтилляторы, например антрацен (рисунок 5).

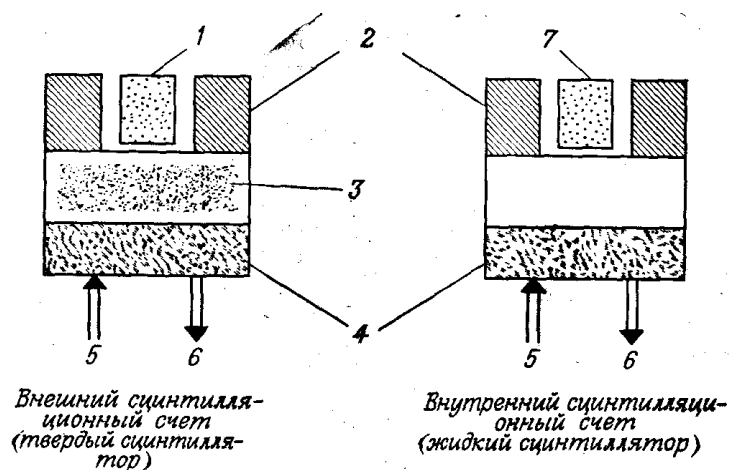


Рисунок 5 – Иллюстрация принципа счета в твердом и жидком сцинтилляторах

- 1—образец; 2—свинцовая защита; 3—флуорофор;
 4 — фотоумножитель; 5—источник высокого напряжения;
 6 — регистрация; 7 — образец + флуорофор

Твердотельные сцинтилляционные счетчики применяются в основном для регистрации γ -излучения. В счетчиках с жидким сцинтиллятором (так называемый внутренний сцинтилляционный подсчет распадов) образец помещают в жидкость, содержащую соответствующий сцинтиллятор. Жидкостные сцинтилляционные счетчики незаменимы для регистрации мягкого β -излучения.

Счет двойной метки. Сцинтилляционные счетчики позволяют количественно разделить радиоактивность двух изотопов в одном образце. Это оказывается возможным из-за различия в энергетических спектрах частиц, испускаемых разными изотопами. Принцип разделения иллюстрирует рис. 6, где приведены слабоперекрывающиеся энергетические спектры двух изотопов S и T. При помощи одного анализатора высоты импульсов отбрасываются все импульсы, энергия которых ниже X (порог X) и выше Y (окно Y). Второй анализатор имеет порог A и окно B. Анализатор высоты импульса, состоящий из порога и окна, называется *каналом*. Для одновременного подсчета распадов двух изотопов нужен двухканальный счетчик. Разделить изотопы можно и на одноканальном счетчике, просчитывая сначала радиоактивность в одном канале, а затем в другом.

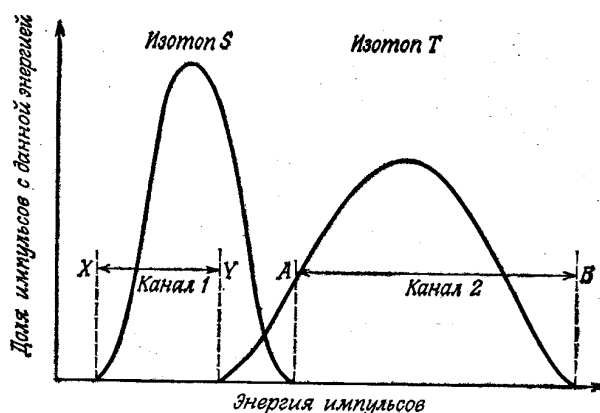


Рисунок 6 – Иллюстрация принципа счета образца с двойной меткой

Методы регистрации, основанные на использовании фотоэмульсий

Ионизирующая радиация, как и видимый свет, дает на фотопластинке скрытое изображение; при взаимодействии радиации фотоэмульсией образуются электроны, которые восстанавливают ионы серебра в металлическое серебро.

При контакте фотопластинок с тканями, срезами или другими биологическими образцами, содержащими радиоактивные соединения, после проявления пластинок в определенных местах возникают почернения, которые отражают распределения радиоизотопов в объекте. Такой метод называется *авторадиографией*; с его помощью находят распределение радиоактивности в тканях костей, листьях растений, клеточных ядрах; его применяют также в бумажной в тонкослойной хроматографии. Как количественный способ определения радиоактивности этот метод используется редко.

Основное достоинство фотографического метода регистрации состоит в том, что его можно применять для исследования процессов в клетке. Однако, хотя этот метод и прост, он требует большой и тщательной подготовительной работы, например подбора времени экспозиции, приготовления тканей. Надо уметь распознавать такие артефакты, как почернение пластинки от попавшего на нее рассеянного света и следы от пальцев. Фотометод используется на практике для исследования α - и β -активных изотопов.

4. Определение радиоактивности на практике и анализ данных.

Определение фона. Все счетчики даже в отсутствие в них радиоактивного образца дают некоторый фоновый счет. *Фон* можно значительно уменьшить, используя упоминавшиеся уже методы и увеличивая свинцовую защиту, но полностью от него избавиться не удастся, он существует всегда, и его надо учитывать во всех опытах. Некоторые счетчики имеют автоматические устройства для вычитания фона.

Мертвое время. При быстром счете на счетчиках Гейгера часть распадов не регистрируется из-за значительного *мертвого времени*

разрядных трубок гейгеровских счетчиков. Для таких счетчиков имеются таблицы поправок, которые вводятся в случае необходимости.

Время полураспада. Время полураспада изотопа может быть очень мало, и это необходимо учитывать при анализе данных.

Геометрия. В счетчиках Гейгера с тонкостенными окнами трубок просчитывают твердые образцы; сначала их высушивают, затем кладут на стальные подложки или стеклянные диски, и такие мишени располагают напротив окна трубки. Необходимо, чтобы все образцы по отношению к окну трубки располагались одинаково; в противном случае счет в одинаковых образцах будет сильно различаться из-за того, что часть излучения не попадет в трубку счетчика. Другой важный *геометрический параметр* – площадь поверхности образцов; она у всех должна быть одинаковой.

Самопоглощение. Вопрос о *самопоглощении* возникает только при работе с гейгеровскими счетчиками. Радиоактивные частицы от твердого образца проходят слой воздуха между трубкой и образцом, окошко трубки и только потом попадают в чувствительную зону. Такой путь проходят лишь частицы изотопов, располагающихся на самой поверхности образца. Частицы же, испускаемые изотопами, находящимися внутри образца, должны пройти всю его толщину. Иногда излучение глубоко расположенного изотопа полностью поглощается и не доходит до трубки, поэтому образец должен быть как можно тоньше.

Статистические вопросы. Испускание частицы – процесс случайный. В этом можно легко убедиться, многократно измеряя радиоактивность долгоживущего изотопа в течение одинаковых промежутков времени. Получающиеся результаты довольно сильно различаются; однако, проделав много измерений, можно убедиться, что все они группируются около некоторого значения числа импульсов. Если результаты таких измерений представить графически, то получится кривая нормального распределения. Таким образом, единичный опыт не дает *истинного числа* импульсов.

Преимущества применения радиоактивной метки

Основное преимущество методов с применением радиоизотопных меток перед другими физическими и химическими методами – их *чувствительность*. Например, удельная радиоактивность чистого трития около $50 \text{ Ки} \cdot \text{мМ}^{-1}$, и этот изотоп можно разбавлять в 10^{12} раз, не опасаясь, что радиоактивность не удастся обнаружить. Применение радиоактивных меток позволяет обнаруживать вещества, присутствующие в клетках в таких малых количествах, когда любой чувствительный химический метод здесь бессилён. Другое преимущество радиоактивных меток состоит в том, что их можно вводить в живой организм и проводить исследования с их помощью на уровне интактного организма, что очень выделяет этот метод среди других. Несмотря на перечисленные преимущества, метод с применением радиоактивной метки, как и всякий метод, имеет некоторые ограничения.

Во-первых, хотя меченые соединения участвуют в тех же биохимических реакциях, что и соответствующие немеченые, скорость таких

реакций с участием изотопов может быть другой, чем для обычных соединений. Это так называемый *изотопный эффект*. Различия в скоростях химических реакций пропорциональны разности масс изотопов. Так, самая большая разница – у изотопов водорода ^1H и ^3H , меньше у ^{12}C и ^{14}C .

Во-вторых, количество изотопа в исследуемом объекте должно быть минимально необходимым для хорошей регистрации, иначе излучение может сказаться на организме, нарушить его функционирование, а следовательно, привести к неверным результатам. И, наконец, следует иметь в виду, что при введении соединения уровень его в организме становится выше нормального; поэтому к получаемым результатам всегда надо относиться критически.