

**КРАКІВСЬКИЙ СКАНУЮЧИЙ ЯДЕРНИЙ МІКРОЗОНД:
МОЖЛИВОСТІ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЕЛЕМЕНТНОГО МІКРОАНАЛІЗУ**

С. Лебедь¹, Я. Леккі², А. Потемпа², З. Стахура², Я. Стичень², П. Осичка³

¹ Інститут прикладної фізики, Суми, Україна

² Інститут ядерної фізики, Краків, Польща

³ Інститут ботаніки, Ягелонський університет, Краків, Польща

У рамках польсько-українського науково-технічного співробітництва в Інституті ядерної фізики (Краків, Польща) збудовано новий мікроаналітичний прилад – скануючий ядерний мікросонд (ЯМЗ). За допомогою впровадженої на ЯМЗ методики характеристичного рентгенівського випромінювання (PIXE - particle induced X-ray emission) отримано перші експериментальні результати: PIXE спектри і відповідні їм двокоординатні карти ($250 \times 250 \text{ мкм}^2$) розподілу хімічних елементів у тонкому (80 – 150 мкм) поперечному зрізі лишайника *Xanthoria parietina*. На цих картах чітко видно неоднорідність розподілу деяких (особливо, слідових) елементів. Отримані результати показують, що методика мікро-PIXE може бути надзвичайно корисною в дослідженнях фізіологічних і біохімічних процесів у тканинах біологічних об'єктів, а також у біомоніторинзі якості повітря. Описано й інші потенціальні можливості ЯМЗ.

1. Вступ

Зараз близько 70 лабораторій світу використовують ЯМЗ для досліджень у таких галузях, як охорона навколишнього середовища, біологія, медицина, геологія, мистецтво, археологія, електроніка та матеріалознавство [1].

Скануючий ЯМЗ - унікальний новітній аналітичний прилад, до складу якого входять прискорювач ядер атомів (іонів) водню (або гелію) до енергій $\sim 1 - 5 \text{ MeV}$ та зондоформуєча система іонів.

Слід відзначити три важливі особливості взаємодії мегаелектронвольтних іонів з матеріальним об'єктом (зразком):

мала ступінь розсіювання іонів по кутах за один акт взаємодії з атомом (ядром) зразка, слабе фонове рентгенівське випромінювання при цьому і, як наслідок, висока аналітична чутливість (до 1 мкг/кг);

пучок іонів здатний проникати з малим розсіюванням по кутах крізь поверхню зразка на довжину “вільного пробігу” ($\sim 10 - 50 \text{ мкм}$), а тому добре сфокусований мікропучок іонів має високу просторову роздільну здатність;

пучок іонів має добре визначену глибину проникнення в зразок і це дозволяє сфокусованим мікропучкам іонів з енергією $\sim 1 \text{ MeV}$ бути використаними в іонній імплантації та для мікрообробки матеріалів [2].

Перелічені особливості відкривають широкі можливості по використанню ЯМЗ не тільки для отримання унікальної аналітичної інформації про елементний склад і структуру зразка, але й для цілеспрямованої зміни його властивостей і структури.

Як мікроаналітичний прилад ЯМЗ дає змогу проводити неруйнуючі дослідження багатьма відомими ядерно-фізичними методиками, такими як PIXE, характеристичного гамма-випромінювання (PIGE), зворотного та прямого резерфордівського розсіювання іонів (RBS, RFS), скануючої трансмісійної іонної мікроскопії (STIM), каналуючої контрастної мікроскопії (CCM), вторинно-електронного відображення (SEI), іонно-пучкового збудження струму (IBIC), дії окремих іонів (SEU) та іншими [3].

Визначають три моди, в яких працюють ЯМЗ:

“сильного” струму ($0,1 - 10 \text{ нА}$) мікропучка, яка забезпечує елементний і структурний аналіз зразків методиками PIXE/PIGE/RBS/RFS/CCM з розміром пучка іонів (роздільною здатністю) на зразку $0,3 - 10 \text{ мкм}$;

“слабкого” струму (0,1 – 1 пкА), за допомогою якої досліджуються властивості матеріальних об’єктів методиками STIM/IBIC з просторовою роздільною здатністю 20 – 100 нм; окремих іонів.

Інститут ядерної фізики (ІЯФ) у Кракові та Інститут прикладної фізики (ІПФ) у Сумах співпрацюють з 1993 р. З того часу команди обох інститутів спроектували і збудували в ІЯФ скануючий ЯМЗ з найкоротшою у світі (2,3 м) оптимізованою зондоформуючою системою [4 - 7]. У 2000 р. на краківському ЯМЗ було впроваджено методику мікро-PIXE [8]. Це одна з найбільш потужних й універсальних мікροаналітичних методик, якій притаманні такі важливі властивості [1, 3]:

- високі порогові чутливості (~ 1 – 20 мг/кг) для більшості хімічних елементів;
- багатоелементність (придатна для аналізу всіх елементів, важчих від Al);
- експресність (~ 10 – 100 хв);
- висока ступінь локальності (~ 0,3 – 10 мкм);
- не руйнівний характер (по відношенню до зразка) аналізу.

За допомогою цієї методики в 2001 р. нами було отримано першу мікροаналітичну інформацію від біологічних зразків – лишайників.

Лишайники – група нижчих рослин, які утворені симбіозом гриба і водорості. Їх відношення базуються на паразитизмі, головним чином з боку гриба. Ці рослини - одні з перших живих організмів, які з’явилися на земній кулі. Вони, зокрема, відіграли й відіграють важливу роль у процесі утворення ґрунту. На цей час існує близько 26000 видів лишайників. Деякі види лишайників використовуються як їжа для оленів, при виготовленні антибіотиків, ароматичних речовин, лакмусу. Лишайники можна знайти на субстраті: корі дерев, камені, ґрунті, гнилій деревині. Вони отримують більшу частину мінеральних поживностей та вологи прямо з повітря або з атмосферних опадів, користуючись для цього здебільшого своєю поверхнею, а не підложкою. Ці рослини є чутливим акумулятором багатьох хімічних елементів та їх сполук, що містяться в оточуючому, часто забрудненому, повітрі. Саме тому лишайники використовуються в екологічних дослідженнях для визначення антропогенних змін у повітрі [9].

На цей час залишаються не зрозумілими деякі особливості метаболізму в тканинах цих рослин. Лишайники не мають судинних тканин. Верхні й нижні шари грибних тканин рослин – цупкі, центральні – пористі, схожі на губку. Ці обставини роблять лишайник ідеальним кандидатом для досліджень з використанням мікро-PIXE методики [10].

Головна мета праці – продемонструвати деякі унікальні можливості цієї методики щодо аналізу процесів абсорбції і транспортування хімічних елементів в біологічному об’єкті (лишайнику), а також наслідків антропогенного навантаження на повітря і флору.

2. Експеримент

2.1. Приготування дослідних зразків

Зразки листястого лишайника (рис. 1) *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. було зібрано у відносно екологічно чистому районі (ліс біля с. Чернетчина, на відстані близько 20 км від центра м. Суми), але неподалік (50 м) від автомобільної дороги. Цей вид лишайника має важливу властивість біоіндикатора чистого повітря тому, що він не існує в умовах його значного забруднення.

За допомогою скляного ножа мікротома зразки було порізано на тонкі смуги. Перед розрізанням лишайник змочувався дистильованою водою (2 - 3 краплі) для надання йому пластичних властивостей. У такому стані він не розпорошується на фрагменти в процесі нарізання смуг. Для мікро-PIXE досліджень було відібрано декілька зразків довжиною 3 – 4, шириною 0,5 – 0,8 і товщиною 0,1 – 0,2 мм. Смуги висушувались при кімнатній температурі і краями кріпилися за допомогою епоксидного клею до алюмінієвої платівки (10 × 10 × 1 мм³) з віконцем (2 × 2 мм²).

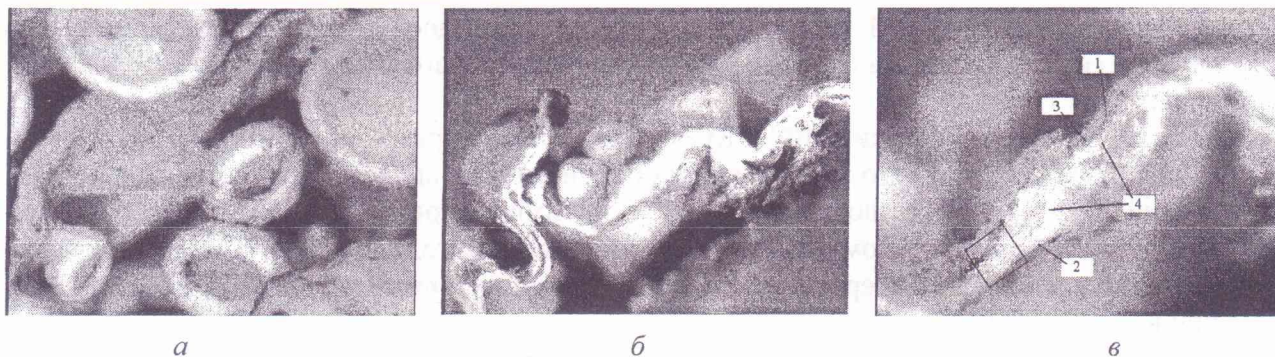


Рис. 1. Зображення лишайника *Xanthoria parietina*, отримане за допомогою оптичного мікроскопа з коефіцієнтами збільшення зображення: $\times 80$ (а і б) і $\times 300$ (в); а – поверхня; б – поперечний зріз; в – фрагмент зрізу б.

Кожний зразок розташовувався у віконці платівки так, щоб скануючий мікропучок іонів ЯМЗ падав на поверхню поперечного зрізу під кутом $\sim 90^\circ$. Платівка у свою чергу кріпилася в вакуумній камері [4, 7] ЯМЗ в утримувачі зразків, який має можливість пересуватися разом з платівкою в камері в трикоординатному просторі за допомогою механічного маніпулятора. У процесі досліджень на поверхні зразка можуть накопичуватися заряди. Зняття цих зарядів здійснювався за допомогою тонкої (0,1 – 0,5 мкм) плівки вуглецю, яка заздалегідь напилювалась на поверхню зразка.

2.2. Система обслуговування методик і користувача краківського ЯМЗ

Для можливості якісного обслуговування ядерно-фізичних методик краківського ЯМЗ та їх користувачів (дослідників) в ІЯФ було розроблено і введено в експлуатацію оригінальну багатопараметричну систему автоматизованого управління процесами (САУП) [11]:

- електромагнітного сканування пучком іонів [4, 7, 8];
- реєстрації, аналогово-цифрової конвертації (ADC), сортування, накопичення й візуалізації вимірюваних даних у режимі on-line;
- аналізу даних і зображення інформації на моніторі комп'ютера в режимі off-line.

САУП виконує свої функції за допомогою стандартних NIM/CAMAC крейтів під контролем операційної системи Windows 98, GPIB модуля (PSC-44M, Delta Elektronika, Holland) і керуючої GPIB карти, встановленої на персональному комп'ютері. GPIB карта працює як інтерфейс між комп'ютером і CAMAC крейт-контролером та між комп'ютером і системою сканування. Спеціалізовані джерела живлення системи сканування пучка іонів керуються за допомогою GPIB модуля. До складу NIM/CAMAC крейтів входять модулі: ADC 4418/V SILENA, 8 inputs, 4096 channels, CFD 584 ORTEC constant fraction discriminator, GG 8010 ORTEC gate generator, NIM-ECL-NIM translator model 82, CAEN, CC-625 ELLEK GPIB crate controller, a quad scaler, timing (863) and spectroscopy (572) ORTEC amplifiers, single channel analyzers and detector power supplies [11]. Програмне забезпечення для останньої версії САУП краківського ЯМЗ написано з використанням Microsoft Visual C/C++ Development Studio. За допомогою розробленої системи повні спектри (поточна кількість детектованих імпульсів у кожному каналі) від кожного детектора одночасно формуються й відображаються на моніторі комп'ютера безпосередньо в процесі вимірювань, у той час як повна інформація про кожну подію (енергію імпульсу і положення пучка іонів на зразку) записується у вигляді дискового файлу, що дає змогу користувачу за декілька хвилин здійснювати подальший (у режимі off-line) аналіз даних. Зокрема, на рис. 2 і 3 демонструються можливості САУП і краківського ЯМЗ забезпечувати багатопараметричний (два параметри просторових і один енергетичний) мікро-PIXE аналіз хімічних елементів у

зразку, визначаючи за допомогою "мишки" на моніторі комп'ютера розмір регіону для дослідження (РДД).

2.3. Результати тестів і вимірювань

Рентгенівське випромінювання реєструвалося за допомогою енергодисперсійного Si(Li) детектора з енергетичною роздільною здатністю ~ 200 еВ при енергії випромінювання 6 кеВ. Детектор розташовувався під кутом $\sim 90^\circ$ по відношенню до напрямку бомбардуючих протонів. На рис. 2 зображено локальний (250×250 мкм²) розподіл характеристичного

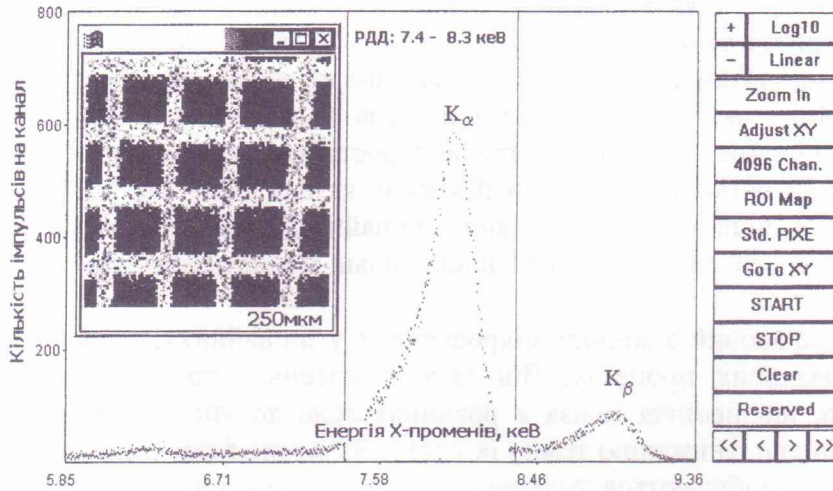


Рис. 2. Мікро-PIXE зображення і спектр від фрагмента стандартної мідної сітки.

рентгенівського випромінювання домінуючого елемента – міді (лінія K_α) від контрольного зразка: стандартної мідної решітки з відомими геометричними параметрами (товщина ребра - 10 мкм, відстань між ребрами сітки – 53 мкм) у режимі: протонний мікропучок з енергією 2 МеВ, струм пучка 3 нА, розмір пучка на сітці ~ 8 мкм. За допомогою отриманої інформації здійснювалась (частково) калібровка енергетичної шкали PIXE, а також тестувались параметри скануючої і фокусуєчої систем ЯМЗ. Мікро-PIXE інформацію (рис. 3) від фрагмента (250×250 мкм²) поперечного зрізу зразка лишайника було отримано за умов:

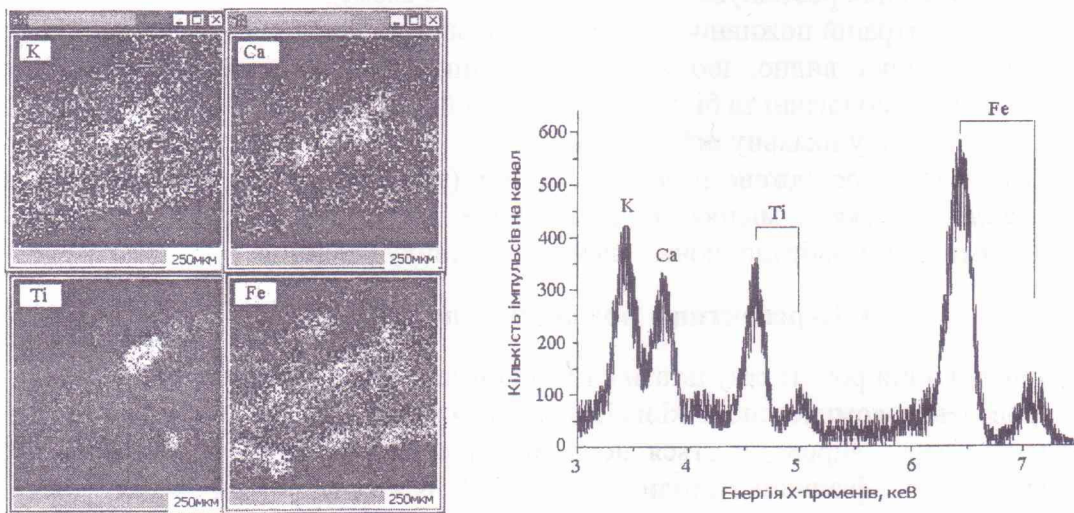


Рис. 3. Елементні мікро-PIXE зображення і спектр (лінії K_α і K_β) від фрагмента (250×250 мкм²) поперечного зрізу лишайника (на рис. 1, в відмічено квадратом).

2,4 MeV - енергія протонів, 1 нА - струм пучка, 4 мкм - просторова роздільна здатність ЯМЗ. На рис.1, в відмічено квадратом відповідний рис. 3 фрагмент. Для можливості підвищити мінімальний поріг реєстрації слідів важких металів у зразку було застосовано фільтр для PIXE (Al платівка товщиною 200 мкм). Це дало змогу значно зменшити навантаження на Si(Li) детектор випромінюванням, що надходило від домінуючих (за концентрацією) легких елементів зразка (алюміній, кремній, фосфор, сірка, хлор, калій, кальцій). Фільтр розміщено безпосередньо перед вхідним віконцем детектора.

3. Обговорення результатів

Головні анатомічні особливості зразка показані на рис. 1, в. У лишайниках до 90 % їх маси складають грибні тканини (рис. 1, в; позиції 1, 3, 4). Водорості займають вузький прошарок (рис. 1, в; позиція 2) під верхнім цупким корковим шаром гриба. За допомогою останнього лишайник активно абсорбує з повітря водяні пари разом з неорганічними і органічними речовинами. У свою чергу, водорості за допомогою реакцій фотосинтезу виробляють поживні органічні речовини й кисень як для себе, так і для гриба. До складу поживних речовин і, відповідно, всіх тканин лишайника входять такі хімічні елементи, як калій і кальцій. Тому ці елементи розподілені більш-менш однорідно в поперечному зрізі зразка (рис. 3, а).

Залізо, як складовий хімічний мікроелемент у лишайнику, відіграє важливу роль в обмінних окислювальних процесах. Він зв'язує кисень і транспортує його до тканин організму. Відомо, що нестача заліза в рослинах веде до уповільнення утворення в них хлорофілу і, відповідно, зниженню темпу їх росту. Як видно з рис. 3, а (світлі плями) процеси за участю заліза відбуваються головним чином на зовнішніх грибних шарах тканин і водоростях. Більша концентрація заліза біля підложки свідчить про те, що значну частину цього важливого для метаболізму рослини елемента вона абсорбує з субстрату.

На особливу увагу заслуговує металевий забруднюючий слідовий елемент – титан. У цьому випадку маємо нагоду продемонструвати за допомогою методики мікро-PIXE реакцію біологічного об'єкта на мікроскопічне забруднення навколишнього середовища (повітря). Можливе походження цього забруднення – викиди у повітря відходів повітрязабруднюючих підприємств та (або) автотранспорту. Як видно з рис.3, а, титан адсорбований у верхньому (50×30 мкм²) і нижньому (10×15 мкм²) шарах грибних тканин зразка. Розподіл цього елемента виразно локалізований. Це свідчить про те, що в лишайнику спрацьовують механізми протидії проникненню забруднення до внутрішніх шарів тканин. На активізацію обмінних процесів у місцях розташування забруднюючого елемента виразно вказує локальне підвищення тут концентрацій поживних елементів (кальцію та калію).

З наведених даних видно, що в тканинах лишайника на мікрометричному рівні відбуваються складні фізіологічні та біохімічні процеси й для їх кращого розуміння методика мікро-PIXE здатна надати унікальну інформацію.

Нами також було досліджено й декілька інших (зібраних поруч) зразків лишайників *Xanthoria parietina*. У деяких місцях на поперечних зрізах цих зразків було виявлено мікроскопічні плями інших забруднюючих елементів – цинку і свинцю.

4. Перспективи подальших досліджень

Представлені в цій роботі результати слід сприймати лише як попередні та якісні. Для можливості проведення комплексного кількісного мікроаналіза на краківському ЯМЗ нами було розроблено і зараз впроваджується нова мішенна камера (рис. 4), оптимізована на потреби головних ядерно-фізичних методик: PIXE, PIGE, RBS, SEI і STIM.

У цій камері можуть бути застосовані одночасно два PIXE детектори (Si(Li)) і XR-100CR), PIGE детектор нового покоління (XR-100T-CZT), два поверхнево-бар'єрних RBS/STIM детектори і SEI детектор (channeltron). Ці заходи дають змогу аналізувати наявність у зразку практично всіх хімічних елементів, починаючи від легких (водень,

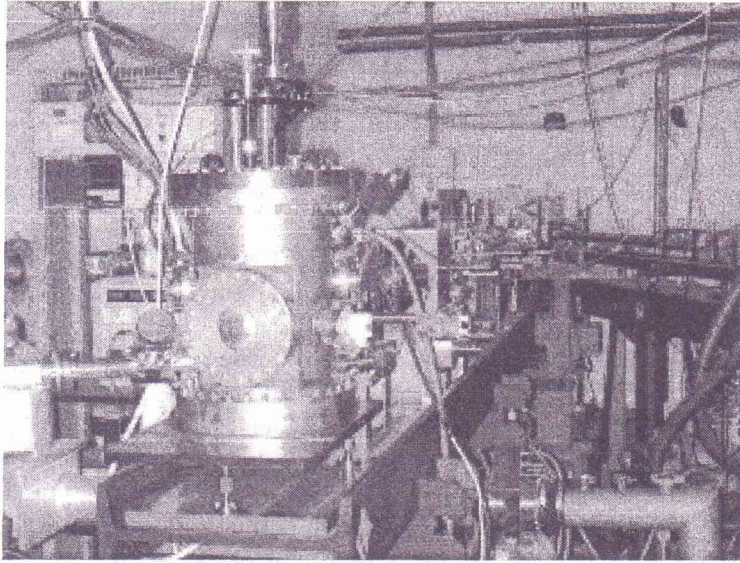


Рис. 4. Краківський мікросонд з новою мішенною камерою.

вуглець, фтор, алюміній тощо) і кінчаючи важкими (стронцій, цезій, кадмій, уран, плутоній, америцій) з роздільними здатностями по енергії на рівні 186 eV при енергії рентгенівського випромінювання 5,9 keV і 1,5 keV при енергії гамма-випромінювання 122 keV, а також досліджувати мікроструктуру зразка.

Слід також відмітити, що застосування фільтра перед PIXE детектором дещо ускладнює кількісний аналіз отриманих результатів. Але це питання може бути розв'язане за допомогою однієї з відомих у світі спеціалізованих комп'ютерних програм GeoPIXE [12]. Крім того, ця програма дає змогу проводити корекцію результатів аналізу з урахуванням реальної товщини зразка.

Усі вжиті вищеперелічені засоби дають змогу здійснити комплексний кількісний мікроаналіз зразків лишайників, які були попередньо досліджені у цій праці.

Для тестових вимірювань нами буде використано контрольний матеріал IAEA-373 (лишайник), наданий Міжнародним агентством атомної енергії (МАГАТЕ).

У 2003 - 2005 рр. у рамках спільного польсько-українського науково-технологічного проекту заплановано провести серію мікроаналітичних досліджень на краківському ЯМЗ локального розподілу хімічних елементів у біологічних зразках (лишайниках і грибах), зібраних у зоні відчуження біля Чорнобильської АЕС.

Автори висловлюють вдячність Державному комітетові з питань наукових досліджень у Польщі та Міністерству освіти і науки України за фінансову підтримку проекту (контракт № 1438/ІА/620/95 і договір № 2М/289-99 відповідно), а також М. Олех, Е. Дуткевичу, В. Сторіжку, В. Черненку, Ю. Рогульському, О. Кулику, О. Кухаренку, П. Павленку, І. Чемерису та іншим співробітникам ІЯФ і ІПФ за надану допомогу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Demortier G.* International Conference on Nuclear Microprobe Technology and Applications - Bordeaux 2000. Conference Summary // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. – 2001. – Vol. B181. – P. 755 - 759.
2. *Van Kan J. A., Bettiol A. A., Watt F.* High Precision 3-D Metallic Microstructures Produced Using Proton Beam Micromachining // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. – 2001. – Vol. B181. – P. 258 – 262.
3. *Jamieson D. N.* New Generation Nuclear Microprobe Systems // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. – 2001. – Vol. B181. – P. 1 – 11.
4. *Lebed S., Stachura Z., Cholewa M. et al.* The New Cracow Scanning Nuclear Microprobe // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. – Ibid. – P. 95 – 98.

5. *Lebed S.* Optimized Short Focusing Systems for a Nuclear Microprobe // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. – 1999. – Vol. B152. – P. 145 – 149.
6. *Lebed S.* Optimization of the Ion-Optical Components for the New Cracow Scanning Nuclear Microprobe // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. – Ibid. – P. 322 – 325.
7. *Lebed S., Cioch Z., Rys A. et al.* Design and Expected Performance of a New Compact Nuclear Microprobe at the Institute of Nuclear Physics in Cracow // Український фізичний журнал. – 1999. – Т. 44. – № 8. – С. 937 – 941.
8. *Lebed S., Lekki J., Paszkowski M. et al.* A New Nuclear Cracow Scanning Nuclear Microprobe: Performance Tests and Early Application Experience // Вопросы атомной науки и техники. – Сер. ядерно-физич. исслед. – 2001. – № 3 – С. 71 – 73.
9. *Dobben H. F., Braak C. J. F.* Ranking of Epiphytic Lichen Sensitivity to Air Pollution Using Survey Data // Lichenologist. – 1999. – Vol. 31(1). – P. 27 – 39.
10. *Clark B. M., Mangelson N. F., Cair L. L. et al.* Analysis of Lichen Thin Sections by PIXE and STIM Using a Proton Microprobe // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. – 1999. – Vol. B150. – P. 248 – 253.
11. *Lekki J., Hajduk R., Lebed. S. et al.* Data acquisition and evaluation system of the Cracow nuclear microprobe. CMB v. 1.1. Report No.1856/AP (2000), Institute of Nuclear Physics, Cracow, www.ifj.edu.pl/reports/2000.html.
12. *Ryan C. G.* Developments in Dynamic Analysis for Quantitative PIXE True Elemental Imaging // Nuclear Instruments and Methods in Physics Research. – 2001. – Vol. B181. – P. 170 – 179.

КРАКОВСКИЙ СКАНИРУЮЩИЙ ЯДЕРНЫЙ МИКРОЗОНД: ВОЗМОЖНОСТИ ИССЛЕДОВАНИЙ И ЭЛЕМЕНТНОГО МИКРОАНАЛИЗА

С. Лебедь, Я. Лекки, А. Потемпа, З. Стахура, Я. Стычень, П. Осычка

В рамках польско-украинского научно-технического сотрудничества в Институте ядерной физики (Краков, Польша) построена новая микроаналитическая установка – сканирующий ядерный микрозонд (ЯМЗ). С помощью внедренной на ЯМЗ методики характеристического рентгеновского излучения (PIXE - particle induced X-ray emission) получены первые экспериментальные результаты: спектры и соответствующие им двухкоординатные карты ($250 \times 250 \text{ мкм}^2$) распределения химических элементов в тонком (80 – 150 мкм) поперечном сечении лишайника *Xanthoria parietina*. На этих картах четко видна неоднородность распределения некоторых (в особенности, следовых) элементов. Полученные результаты показывают, что методика микро-PIXE может быть чрезвычайно полезна в исследованиях физиологических и биохимических процессов в тканях биологических объектов, а также в биомониторинге качества воздуха. Описаны и другие потенциальные возможности краковского ЯМЗ.

THE CRACOW SCANNING NUCLEAR MICROPROBE: RESEARCH POSSIBILITIES AND ELEMENT MICROANALYSIS

S. Lebed, J. Lekki, A. Potempa, Z. Stachura, J. Styczen, P. Osyczka

A new micro analytical setup based on the scanning nuclear microprobe (MP) was constructed in the Institute of Nuclear Physics (INP) in Cracow, Poland in the framework of Polish-Ukrainian scientific and technical collaboration. The particle induced X-ray emission (PIXE) technique is installed on the MP. The PIXE spectra and corresponding two-dimensional distribution maps ($250 \times 250 \text{ }\mu\text{m}^2$) of chemical elements in thin (80 - 150 μm) sections of the lichen *Xanthoria parietina* were obtained. Heterogeneity of several elements (trace elements, in particular) distributions is clearly visualized in the maps. The obtained results show that micro-PIXE method can be extremely useful in the investigations of physiological and biochemical processes in a tissue of biological sample as well as in biomonitoring of air quality. The potential possibilities of the Cracow MP are described in the paper.

Надійшла до редакції 25.01.02,
після доопрацювання – 16.09.02.