

УДК 539.12.08:621.039.85

## РАСЧЕТ СРЕДНЕЙ ПОГЛОЩЕННОЙ ДОЗЫ БЕТА-ИЗЛУЧЕНИЯ В КЛЕТКАХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ ИХ ВЫРАЩИВАНИИ НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ С МЕЧЕНЫМ УГЛЕРОДОМ

А. О. ФУРМАН

(Кафедра прикладной атомной физики и радиохимии).

В исследованиях, посвященных микробиологическому синтезу, широко применяется метод радиоактивных индикаторов. При изучении ассимиляции жидких n-алканов микроорганизмами последние обычно культивируются на суспензиях с  $^{14}\text{C}$ -субстратами. Например, в работе [3] изучался баланс углерода в онтогенезе дрожжей *Candida tropi-*

*calis* при выращивании их на среде с  $^{14}\text{C}$ -октадеканом. Система состояла из суспензии дрожжевых клеток и  $^{14}\text{C}$ -октадекана в водном солевом растворе. Исходная удельная активность раствора октадекана составляла 7,4—37 кБк/мл (0,2—1 мкКв/мл). В течение культивации ( $\sim 12$  ч) наблюдался рост биомассы дрожжей за счет утилизации углеро-

да из  $^{14}\text{C}$ -субстрата; при этом удельная активность биомассы увеличивалась, а субстрата — уменьшалась. В дальнейшем (до ~24 ч) удельная активность дрожжевых клеток изменялась незначительно. Были получены кривые кинетики ассимиляции  $^{14}\text{C}$  дрожжами при различных концентрациях  $1\text{-}^{14}\text{C}$ -октадекана в растворе (0,1, 0,2 и 1 %).

Не останавливаясь на конкретных результатах указанной и аналогичных работ, отметим, что при изучении биосинтеза с применением радиондикаторов необходимо определить дозу ионизирующего излучения, создаваемую в клетках микроорганизмов за период их культивации. Поглощение излучения радионуклидов в веществе клеток биомассы может привести к возникновению ряда радиационно-химических реакций, сопровождаемых большим или меньшим «возмущением» нормального течения изучаемых физиологических и биохимических процессов. Зная величину поглощенной дозы излучения, можно выбрать оптимальный диапазон активности меченого субстрата, что позволит избежать влияния ионизирующей радиации на ход микробиологического синтеза.

В настоящей работе выполнен расчет средней поглощенной дозы  $\beta$ -излучения в клетках микроорганизмов, культивируемых на средах с  $^{14}\text{C}$ -субстратами. Определение дозы основано на теории поглощения ионизирующего излучения в объемах вещества, содержащего радиоактивные нуклиды [2, 5]. При вычислении плотности поглощения энергии  $\beta$ -излучения внутри объемного излучателя [5] нами было принято, что радиоактивный нуклид равномерно распределен в веществе излучателя, а поглощение  $\beta$ -излучения в рассматриваемом объеме происходит однородно, изотропно и подчиняется экспоненциальному закону.

Средняя плотность поглощения энергии  $\beta$ -излучения в однородном излучателе  $\xi$  (МэВ/см<sup>3</sup>·с) определяется как разность между количеством энергии, генерируемой в 1 с во всем объеме излучателя, и полным потоком энергии  $I$ , пронизывающим его поверхность, отнесенная к объему рассматриваемого излучателя  $V$ :

$$\xi = \frac{\chi V - I}{V}. \quad (1)$$

Здесь  $\chi$  — количество энергии, испускаемое единицей объема излучателя в 1 с, — «радиационная мощность» (МэВ/см<sup>3</sup>·с):

$$\chi = 3,7 \cdot 10^4 \cdot \bar{E}_\beta \cdot C, \quad (2)$$

$\bar{E}_\beta$  — средняя энергия  $\beta$ -спектра радионуклида, МэВ;  $C$  — концентрация радиоактивного вещества в излучателе (объемная удельная активность), мкКи/см<sup>3</sup>. Поток энергии  $I$  (МэВ/с) находили интегрированием элементарного потока по всей поверхности объемного излучателя.

Были получены выражения для  $\xi$  внутри излучателей, имеющих форму сферы, цилиндра и плоскопараллельной пластинки, в частности, для однородного сферического излучателя

$$\xi_{c\phi} = \chi F(\mu d) = \chi \cdot \left\{ 1 - \frac{3}{2\mu d} \times \left[ 1 + 2 \frac{(1 + \mu d) e^{-\mu d} - 1}{\mu^2 d^2} \right] \right\}, \quad (3)$$

где  $\mu$  — линейный коэффициент поглощения  $\beta$ -излучения в данной среде, см<sup>-1</sup>;  $d$  — диаметр сферического объекта, см.

Из (3) следует, что при  $\mu d \rightarrow \infty$   $F(\mu d) \rightarrow 1$  и  $\xi \rightarrow \chi$ . т. е.  $\xi$  будет равна количеству энергии, генерируемой в единице объема излучателя. Уже при  $\mu d \geq 50 \cdot 0,97 \leq F(\mu d) \leq 1$ , и увеличение  $d$  сферического излучателя практически не влияет на плотность поглощенной энергии — наступает ее «насыщение».

Как известно,  $\beta$ -излучение  $^{14}\text{C}$  имеет следующие характеристики: максимальная энергия  $E_m = 0,155$  МэВ, средняя энергия  $\bar{E}_\beta = 0,050$  МэВ, массовый коэффициент поглощения в веществе  $\mu' = 0,26$  см<sup>2</sup>/мг, максимальный пробег  $\beta$ -частиц  $R_m = 20$  мг/см<sup>2</sup>. Если плотность рассматриваемой среды  $\rho = 1$  г/см<sup>3</sup> = 1000 мг/см<sup>3</sup> (вода, биологическая ткань), то для  $\beta$ -излучения  $^{14}\text{C}$  линейный коэффициент поглощения  $\mu = \mu' \rho = 260$  см<sup>-1</sup>, а максимальный линейный пробег  $R_m = R_m / \rho = 0,02$  см = 0,2 мм. Из условия  $\mu d = 50$  следует, что в водной среде, содержащей  $^{14}\text{C}$ , насыщение плотности поглощенной энергии наступает при  $d_{нас} \approx 0,2$  см, т. е. в сфере радиусом  $r_{нас} = 1$  мм  $\approx 5R_m$ .

Средняя мощность поглощенной дозы  $\beta$ -излучения в однородном сферическом излучателе  $P$  (Гр/с) определяется из соотношения

$$P = 1,6 \cdot 10^{-10} \cdot \frac{\xi_{c\phi}}{\rho}, \quad (4)$$

где  $\rho$  — плотность вещества, г/см<sup>3</sup>. Учитывая (2) и (3), получаем

$$P = 5,92 \cdot 10^{-6} \cdot \bar{E}_\beta \cdot \frac{C}{\rho} \cdot F(\mu d), \quad (5)$$

где  $F(\mu d)$  — выражение в фигурных скобках равенства (3). Напомним, что единица мощности поглощенной дозы 1 Гр/с = 1 Дж/кг·с = 100 рад/с.

Применим полученные формулы к упомянутой выше сложной системе, состоящей из суспензии клеток дрожжей в водном растворе частиц диспергированного жидкого  $1\text{-}^{14}\text{C}$ -октадекана (эмульсия) [3].

Дрожжевые клетки можно представить в виде шариков, имеющих  $d_1 = 8$  мкм и  $\rho_1 = 1,1$  г/см<sup>3</sup>. При постоянном перемешивании клетки дрожжей равномерно распределяются в растворе минеральной среды и суспензии жидкого  $n$ -алкана со средней концентрацией биомассы  $a_1 \approx 1,5$  мг/см<sup>3</sup>. Для указанных значений  $d$  и  $\rho$  масса клетки  $m_1 \approx 3 \cdot 10^{-7}$  мг и, следовательно, в 1 см<sup>3</sup> суспензии содержится  $n = a_1 / m_1 \approx 5 \cdot 10^6$  клеток, что соответствует среднему расстоянию между ними  $r \sim 100$  мкм.

При удельной активности  $1\text{-}^{14}\text{C}$ -октадекана 100 мкКи/см<sup>3</sup> его концентрация в растворе составляла 0,2 %, следовательно, исходная удельная активность эмульсии  $C_2 = 0,2$  мкКи/см<sup>3</sup>. Раствор субстрата имел  $\rho_2 = 1$  г/см<sup>3</sup> и объем 100 см<sup>3</sup>; при этом поперечные размеры системы  $d_2 \approx 6$  см, обеспечивается насыщение средней плотности поглощения энергии, так как  $d_2 \gg d_{нас}$  (можно считать  $d_2 = \infty$ ).

По мере увеличения биомассы (до  $t = 12$  ч) ее удельная активность возрастала от 0 до 0,106 мкКи на 1 см<sup>3</sup> среды и при  $t = 12 + 24$  ч колебалась в пределах 10—15 %. Для концентрации биомассы в среде

$a_1 = 1,5 \text{ мг/см}^3$  массовая удельная активность дрожжевых клеток  $q_1 = 0,106/1,5 \cdot 10^{-3} = 70,7 \text{ мкКи/г}$ , а объемная удельная активность  $C_1 = 70,7 \cdot 1,1 = 77,7 \text{ мкКи на } 1 \text{ см}^3$  вещества клетки.

Для оценки верхнего предела дозы излучения в клетке дрожжей предположим, что удельная активность самой клетки постоянна и равна значению  $C_1$ ; эта величина определяет внутреннее облучение клетки. Внешнее облучение каждой клетки создается эмульсией октадекана и суспензией дрожжевых клеток, находящимися в сферической области радиусом  $\sim R_m$ .

В реальном эксперименте активность культуральной среды не остается постоянной, она динамически распределяется между отдельными фракциями за счет поступления  $^{14}\text{C}$  из эмульсии октадекана в дрожжевые клетки и в летучие продукты метаболизма ( $\text{CO}_2$ ) [3]. Однако при грубой оценке внешнего облучения клетки можно допустить, что суспензия однородна, ее удельная активность постоянна и равна исходной активности раствора  $C_2$ . Такое допущение позволяет не учитывать отдельно взаимное облучение соседних клеток и вместе с тем, по видимому, приводит к завышенной оценке вклада внешнего облучения в суммарную дозу за период культивации ( $t = 24 \text{ ч}$ ).

Определим  $P$  внутреннего и внешнего облучения  $\beta$ -излучением  $^{14}\text{C}$  в отдельной клетке дрожжей для указанных выше условий эксперимента.

Пусть:  $P_1$  — средняя мощность дозы внутреннего облучения клетки, имеющей  $d_1, \rho_1$  и содержащей  $^{14}\text{C}$  с удельной активностью  $C_1$ ;  $P_2$  — та же величина для клетки, содержащей  $^{14}\text{C}$  с удельной активностью  $C_2$ ;  $P_3$  — средняя мощность дозы в сферическом объеме среды, имеющем  $d_2, \rho_2$  и содержащем  $^{14}\text{C}$  с удельной активностью  $C_2$ .

Тогда  $P$  (Гр/с) в дрожжевой клетке определяется из равенства

$$P = P_{\text{внутр}} + P_{\text{внешн}} = P_1 + (P_3 - P_2). \quad (6)$$

Используя соотношение (5), получим

$$P = 5,92 \cdot 10^{-6} \cdot \bar{E}_\beta \left\{ \frac{C_1}{\rho_1} F(\mu_1 d_1) + \frac{C_2}{\rho_2} F(\mu_2 d_2) - \frac{C_2}{\rho_1} F(\mu_1 d_1) \right\}, \quad (7)$$

где  $F(\mu d)$  — выражение в фигурных скобках формулы (3).

Подставляя в (7) значения  $\bar{E}_\beta = 0,05 \text{ МэВ}$ ,  $\mu' = 260 \text{ см}^2/\text{г}$ ,  $\rho_1 = 1,1 \text{ г/см}^3$ ,  $\rho_2 = 1 \text{ г/см}^3$ ,  $\mu_1 = \mu' \rho_1 = 286 \text{ см}^{-1}$ ,  $\mu_2 = 260 \text{ см}^{-1}$ ,  $d_1 = 8 \cdot 10^{-4} \text{ см}$ ,  $d_2 = \infty$ ,  $C_1 = 77,7 \text{ мкКи/см}^3$ ,  $C_2 = 0,2 \text{ мкКи/см}^3$ , находим

$$P = 2,96 \cdot 10^{-7} \{ 70,7 \cdot F(0,23) + 0,2 \cdot F(\infty) - 0,18 \cdot F(0,23) \}.$$

Так как  $F(0,23) = 0,0914$ ,  $F(\infty) = 1$ , то мощность дозы  $P = P_{\text{внутр}} + P_{\text{внешн}} = (1,913 + 0,054) \cdot 10^{-6} \text{ Гр/с} \approx 1,97 \cdot 10^{-6} \text{ Гр/с} \approx 7,1 \cdot 10^{-3} \text{ Гр/ч} = 0,71 \text{ рад/ч}$ .

Для заданных условий опыта вклад внеш-

него облучения в общую мощность дозы в клетке не превышает 3 %, поэтому допущение о постоянной удельной активности эмульсии октадекана практически не влияет на результат.

Можно оценить верхнее значение дозы  $\beta$ -излучения  $D$ , создаваемой в клетке дрожжей, если принять, что в течение всего времени культивации  $t = 24 \text{ ч}$  удельные активности  $C_1$  и  $C_2$  постоянны, следовательно, мощность дозы  $P = \text{Const}$ . Тогда  $D = Pt = 0,71 \cdot 24 = 17 \text{ рад} = 0,17 \text{ Гр}$ .

Для точного расчета дозы излучения в клетке нужно знать закон изменения мощности дозы  $P(t)$ , который в основном определяется кинетикой ассимиляции  $^{14}\text{C}$ -октадекана дрожжами и изменением их удельной активности. Если принять, что удельная активность дрожжевых клеток в течение  $t_1 = 12 \text{ ч}$  изменяется по линейному закону от 0 до  $C_1$ , а затем в течение  $t_2 = 12 \text{ ч}$  остается постоянной, то реальная доза излучения в клетке за 24 ч не превысит 75 % указанной выше величины.

В другой работе [4] исследовалась ассимиляция углерода бактериальными клетками из раствора меченого  $^{14}\text{C}$  метанола ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ) в водной среде.

У шарообразных клеток бактерий  $d_1 = 2 \text{ мкм}$ ,  $\rho_1 = 1,2 \text{ г/см}^3$ ; для них коэффициент поглощения  $\beta$ -излучения  $^{14}\text{C}$   $\mu_1 = 312 \text{ см}^{-1}$ . При концентрации клеток в среде  $1,5 \text{ мг/см}^3$  и активности биомассы  $0,03 \text{ мкКи на } 1 \text{ см}^3$  суспензии равновесная удельная активность  $C_1 = 24 \text{ мкКи на } 1 \text{ см}^3$  вещества клетки.

Для водного раствора метанола  $\rho_2 = 1 \text{ г/см}^3$ ,  $\mu_2 = 2 \text{ см}^{-1}$ ; объем раствора  $50 \text{ см}^3$ , а поперечные размеры  $d_2 \gg R_m$ , т. е.  $d_2 = \infty$ . При концентрации  $^{14}\text{C}$ -метанола в среде 0,5 % равновесная удельная активность раствора  $C_2 = 0,43 \text{ мкКи/см}^3$ . В данной системе сорбционное равновесие между клетками и средой наступало сравнительно быстро (через 5—10 мин), а общее время культивации  $t = 24 \text{ ч}$ .

Выполняя вычисления по формуле (7), находим среднюю мощность дозы в бактериальной клетке для данных условий опыта:

$$P = 2,96 \cdot 10^{-7} \{ 20 \cdot F(0,0624) + 0,43 \cdot F(\infty) - 0,358 \cdot F(0,0624) \};$$

Так как  $F(0,0624) = 0,0459$ ,  $F(\infty) = 1$ , то

$$P = P_{\text{внутр}} + P_{\text{внешн}} = (0,272 + 0,122) \cdot 10^{-6} \text{ Гр/с} = 14,2 \cdot 10^{-4} \text{ Гр/ч} = 0,14 \text{ рад/ч}.$$

В этом примере мощности дозы внутренне-го и внешнего облучения бактерии сравнимы по порядку величины. Считая, что равновесное значение мощности дозы постоянно, находим суммарную дозу в бактериальной клетке за 24 ч:  $D = 3,4 \text{ рад} = 0,034 \text{ Гр}$ .

В других аналогичных опытах при более высокой удельной активности растворов с  $^{14}\text{C}$ -субстратами дозы ионизирующего излучения, получаемые клетками микроорганизмов за период их культивации, могут достигать 1 Гр. Такие дозы практически не влияют на процессы микробиологического синтеза. Они на 2—3 порядка меньше доз, приводящих к нарушению репродуктивной способности микроорганизмов и характеризующих радиочувствительность различных бактерий [1].

Таким образом, использование  $^{14}\text{C}$ -субстратов в описанных экспериментах при изучении микробиологического синтеза является

методически оправданным.

Автор благодарит Е. Г. Давидову за полезные консультации.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кузин А. М., Каушанский Д. А. Прикладная радиобиология. М.: Энергоиздат, 1981. — 2. Радиационная дозиметрия / Под ред. Дж. Хайна и Г. Браунелла. М.: ИЛ, 1958. — 3. Рачинский В. В., Давидова Е. Г. Баланс меченого углерода при ассимиляции  $1\text{-}^{14}\text{C}$ -октадекана дрожжами *Candida tropicalis*. — Изв. ТСХА, 1970, вып. 5, с. 19—24. — 4. Рачинский В. В., Давидов Е. Г., Давидова Е. Г. Исследование углеродного обмена у микроорга-

низмов при их росте на различных источниках углерода. — Итоги 1983 года. Часть III. Депонировано во ВНИИформцентре, 02.84.0.060135, 16 января 1984 г. — 5. Целищев С. П., Фурман А. О. Поглощение излучения в объемах вещества, содержащего радиоактивные изотопы. — Изв. ТСХА, 1957, вып. 3, с. 110—115.

*Статья поступила 15 марта 1985 г.*

## SUMMARY

Average absorbed rate of  $\beta$ -irradiation in cells of microorganisms cultivated on  $^{14}\text{C}$ -substrates has been calculated. Rates of irradiation obtained by microorganisms for the period of cultivation is not higher than 1 Gr and have practically no effect on microbiologic synthesis processes.