

А. А. АРЕВШАТЯН

## КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА СЛАБЫХ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВЕЧЕНИЙ

Обнаруженное в 1954 г. слабое свечение растительных клеток [6, 7], а позже, в 1961 г. и у тканей животных [3, 4], так называемое спонтанное сверхслабое излучение в настоящее время широко используется при различных исследованиях биологических структур. Преимуществом оптических методов исследований и, в частности, спектрофотометрии сверхслабых бионзлучений является то, что при этом можно не нарушать целостности организма или клетки. По предварительным данным сверхслабое излучение тканей животных лежит в видимой области спектра 400—750 мк [2]. У зеленых одноклеточных организмов наблюдается излучение в красной области спектра, возникающее после действия дневного света. Максимум этого индуцированного излучения, обнаруженного Стрелером в 1951 г. [10], находится в области 680 мк и, можно полагать, что оно связано с возбужденным состоянием молекул хлорофилла.

Однако при исследованиях сверхслабых излучений возникают трудности, связанные с регистрацией слабых лучистых потоков. При интенсивностях в несколько сот или даже тысяч квантов в секунду такие излучения современные фотоумножители (ФЭУ), работающие в токовом режиме, не в состоянии уверенно регистрировать. Несмотря на довольно длительный период, прошедший со времени открытия слабых свечений у живых организмов, нет объективных данных о количественной стороне этих излучений. Трудность количественных измерений заключается еще в отсутствии детекторов с известной абсолютной спектральной чувствительностью. Заметим при этом, что нередко при интерпретации результатов измерений сверхслабых излучений не принимается во внимание зависимость чувствительности ФЭУ от длины волны, что может привести к неправильной оценке спектрального состава излучения [1].

С целью более детального изучения явлений сверхслабого свечения была собрана установка, с помощью которой можно было вести измерения слабых лучистых потоков в абсолютных единицах энергии. Детектором свечения был ФЭУ, работающий в квантометрическом режиме при глубоком охлаждении, что позволило увеличить пороговую чувствительность ФЭУ по сравнению с таковым режимом на 3—4 порядка.

Фотоумножители ФЭУ-18А и ФЭУ-22 были отобраны по предложенному Н. С. Хлебниковым [5] принципу наличия у них напряжения питания, при котором имеет место одноэлектронный характер выходных им-

пульсов. Наличие выходных импульсов, образованных не одним, а двумя или более фотоэлектронами, может привести к значительным ошибкам при количественной оценке измеряемых сверхслабых лучистых потоков. Всего было проверено свыше 100 штук ФЭУ, из которых были выбраны ФЭУ-18А и ФЭУ-22, наиболее полно удовлетворяющие одноэлектронному принципу. Напряжение питания для ФЭУ-18А составляло 950 вольт, для ФЭУ-22—1500 вольт. Применение двух типов ФЭУ позволило проводить исследования в широкой спектральной области от 350 мкм до 750 мкм.

Регистрирующее устройство состояло из стандартной аппаратуры: катодного повторителя, усилителя VIII-10 с смонтированным амплитудным дискриминатором и пересчетной установки ПП-6. Количество тепловых импульсов снижалось на четыре порядка при охлаждении с  $22^{\circ}\text{C}$  до  $-185^{\circ}\text{C}$  и составляло 5—7 импульсов в минуту для ФЭУ-18А. При этом у отобранного ФЭУ интегральная и спектральная чувствительности уменьшались в токовом режиме в 3,4—3,7 раза, а в режиме счета отдельных импульсов менее чем в 2 раза. Такая разница объясняется значительным уменьшением усиления сурьмяно-цезиевых динодов, что ведет к уменьшению амплитуды выходных импульсов, но не влияет на их количество, которое определяется квантовым выходом фотоэзода и конструкцией ФЭУ. Максимум спектральной чувствительности при охлаждении до  $-185^{\circ}\text{C}$  смещается в коротковолновую область на 28—32 мкм. Интегральная и спектральная чувствительности ФЭУ-22 при охлаждении практически не изменяются при работе в режиме счета импульсов, но наблюдается небольшой сдвиг порядка 12—15 мкм второго максимума, находящегося около 800 мкм в длинноволновую область спектра.

Стандартизованный источник с известным спектральным распределением лучистой энергии, т. е. ленточная лампа накаливания, позволил нам не только прокалибровать ФЭУ в абсолютных единицах энергии, но и практически проверить с достаточной степенью точности одноэлектронный характер выходных импульсов у выбранных нами ФЭУ. Ленточная лампа, или бандлампа, была откалибрована в лаборатории проф. Ориштейна при Утрехтском университете с точностью до 3% [9]. Излучаемая лучистая энергия лампы составляла  $10^6$ — $10^7$  эрг в секунду, поэтому необходимо было ослаблять световые пучки такой энергии на много порядков.

Система ослабления светового потока состояла из двух фарфоровых кружков диаметром 1 см (с распыленной на них окисью магния) и расположенных по отношению друг к другу под углом  $45^{\circ}$ . Конфигурация и оптические свойства таких экранов позволяют ослаблять световые потоки в известное число раз с точностью не хуже 3—5%. Лучистый поток мог ослабляться в  $10^4$ — $10^5$  раз. Выделение монохроматических световых пучков при калибровке ФЭУ производилось с помощью узкополосных интерференционных фильтров с полушириной в максимуме пропускания 8—12 мкм.

Второй экран проектировался на фотокатод так, что его изображение полностью умещалось на фотокатоде, и служил моделью светящегося объекта. Помещая исследуемый объект строго на место этого экрана, мы тем самым исключали трудноучитываемые ошибки, связанные с рассеянием и отражением света поверхностями собирающей линзы и баллона ФЭУ.

Проведенные измерения показали, что квантовый выход ФЭУ-18А в максимуме спектральной чувствительности при температуре  $-185^{\circ}\text{C}$  для длины волны 380 мкм составляет 10,3%, а для 510 мкм—6,0%. У ФЭУ-22 квантовый выход для 716 мкм составлял 1,44% (табл. 1).

Таблица 1  
Абсолютная спектральная чувствительность ФЭУ-18А и ФЭУ-22 при температуре  $-186^{\circ}\text{C}^*$

Фотоинжектор	Длина волны в мкм	Число квантов в секунду	Число импульсов в сек. на выходе ФЭУ	Квантовый выход установки
ФЭУ-18А	320	75	6,7±0,2	8,9
	362	84	8,8±0,1	10,2
	381	120	12,4±0,5	10,3
	404	65	6,4±0,3	9,9
	457	92	7,0±0,3	7,6
	492	153	10,3±0,5	6,6
	523	160	9,6±0,5	6,0
	554	182	8,9±0,4	4,9
	586	210	6,9±0,4	3,3
	618	250	2,5±0,2	1,0
ФЭУ-22	618	320	2,9±0,2	0,90
	647	300	3,4±0,2	1,15
	673	275	3,4±0,3	1,28
	716	255	3,6±0,3	1,44
	733	215	3,2±0,3	1,48
	749	200	3,0±0,2	1,50

На описанной установке нам удалось определить абсолютную величину интенсивности сверхслабых излучений печеночной ткани, корешков и проростков лука почти во всем спектральном диапазоне чувствительности ФЭУ-18А и ФЭУ-22. Спектр излучения определялся с помощью широкополосных фильтров и методом граничных фильтров.

При измерениях сверхслабого свечения живой печеночной ткани белых мышей печень выводили в разрез прямой мышцы живота и помещали на место второго экрана. Черная диафрагма выделяла круг диаметров в 1 см. Температура могла изменяться в широком интервале от  $7^{\circ}\text{C}$  до  $60^{\circ}\text{C}$  и поддерживалась с точностью до  $0,5^{\circ}\text{C}$ . В видимой области спектра наблюдался максимум излучения, расположенный около 490 мкм, и

\* Измерение спектральной чувствительности проведено по 32 точкам для ФЭУ-18А и по 34—для ФЭУ-22.

интенсивность в пересчете на  $1 \text{ см}^2$  излучающей ткани, составляла  $(1,1-1,4) \cdot 10^3$  квантов в секунду или что соответствует примерно  $8 \cdot 10^{-7}$  эрг/сек. (табл. 2). Суммарная величина излучаемой энергии в диапазоне 390—600 мк составила величину порядка  $(2,2-2,5) \cdot 10^{-1}$  эрг/сек.  $\text{см}^2$ .

Проведенные измерения с корешками и проростками лука показали, что суммарная интенсивность в пределах спектральной чувствительности ФЭУ-18А корешков в 1,7—2,0 раза больше, чем у проростков. Эти результаты хорошо согласуются с данными, приведенными в работах Колли и Фассини [6, 7, 8]. При измерениях корешки и проростки плотной массой заполняли стеклянную кювету, которая располагалась на месте второго экрана; излучающая поверхность образовывала круг диаметром 1 см. Максимум излучения корешков наблюдался в области 460 мк, а интенсивность составляла  $(1,8-2,2) \cdot 10^4$  кв/сек.  $\text{см}^2$ . У проростков наблюдалось свечение в области чувствительности ФЭУ-18, но максимум излучения наблюдался около 600 мк, и суммарная интенсивность при этом составляла величину порядка  $10^5$  кв/сек.  $\text{см}^2$ .

Таблица 2  
Спектральное распределение\* сверхслабого свечения корешков и проростков лука (при температуре 20°С) и печеночной ткани мышей (число фотонов на  $1 \text{ см}^2$  и излучающей поверхности в 1 сек. на 1 мк длины волны).

Мк	Корешки	Проростки	Печеночная ткань
400	790	340	130
480	900	500	220
550	770	520	230
650	500	350	210

Величина погрешности результатов измерений, в основном, складывается из ошибки, имеющей место при калибровке ФЭУ, в определении спектральных коэффициентов пропускания широкополосных фильтров, и в общей сложности составляет примерно 15%.

Осуществленный нами на вышеописанной установке метод позволяет с достаточной степенью точности определять спектральный состав и интенсивность сверхслабых световых излучений непосредственно в абсолютных единицах энергии, или число фотонов в секунду. Полученные нами результаты позволяют надеяться, что применение метода количественных исследований сверхслабых свечений даст возможность более глубоко и всесторонне изучить природу этого явления. В то же время он сделает сопоставимым между собой результаты различных авторов.

Поступило 5.VI 1965 г.

\* Спектральный состав определяется для 10—12 длин волн в интервале 350—750 мк.

Ա. Ա. ԱՐԵՎԵՍՏՅԱՆ

ՔՈՒՅԷԼ ԿԵՆՍԱՐԱՆԱԿԱՆ ԼՈՒՍԱՎՈՐՈՒՄՆԵՐԻ ՔԱՆՎԱԿԱՆ ԳՆԱՀԱՏԱԿԱՆԸ

Ա մ փ ո փ ո ս մ

Ընտրվել են ՖէՈՒ — 18Ա և ՖէՈՒ — 22-ը, որոնք աշխատում էին ելքի իմպուլսների մի էլեկտրոնային ռեժիմում: Հույսի ստանդարտացված աղբյուրի ծաղաղենավոր յամպի կամ բանդլամպի սզնության մը ՖէՈՒ-ները ենթարկվել են տրամաշարի ման: Տրված է սոխի արմատների և ծիլերի, ինչպես նաև մեկնող, լյարդային հյուսվածքի գերթույլ լուսավորման բանակալան գնահատականը:

Չափումների սխալների մեծությունը կազմում է մոտավորապես 15%:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Журавлев А. И., Филиппов Ю. И. Биоломинесценция, тезисы симпозиума, 1963.
2. Поливоди А. И., Секамова Е. Н. Радиобиология, 6, 1962.
3. Тарусов В. И., Поливода А. И., Журавлев А. И. Биофизика, 6, 4, 1961.
4. Тарусов В. И., Поливода А. И., Журавлев А. И. Радиобиология, 1, 150, 1961.
5. Хлебников И. С., Ковалева Т. А., Меламид А. Е. Радиотехника и электроника, 7, 3, 1962.
6. Colli, Facchini. Nuovo Cimento, 12, 1, 1954.
7. Colli, Facchini and Rossi. Nuovo Cimento, 11, 3, 1954.
8. Colli, Esperienza 11, 12, 1955.
9. Grunstein-Moll-Burger. Objektive Spektralphotometrie Braunschweig, 1932.
10. Strehler B. L., Arnold W. Jour. Physiol., 34, 1951.