

JANUSZ CHMURA, JANUSZ SŁAWIŃSKI \*

## Urządzenie do mierzenia fotoindukowanej luminescencji

### WSTĘP

W ostatnich latach odkryto wolno zanikającą luminescencję z tkanek roślinnych nie zawierających chlorofilu [1, 2] oraz z tkanek zwierzęcych normalnych i rakowatych [3]. Występuje ona po uprzednim naświetleniu tkanki światłem białym lub monochromatycznym i zanika w czasie od kilku do kilkuset minut według równania hiperbolicznego:

$$I_t = A(t_0 - t)^{-\beta}$$

gdzie  $I_t$  - natężenie fotoindukowanej luminescencji po czasie obserwacji  $t$  (licząc od momentu wyłączenia naświetlania),  $A$  - współczynnik zależny od  $\beta$ , a wykładnik  $1 < \beta < 3$  [4].

Li i Popp [2, 4] skonstruowali klasyczny i kwantowo-mechaniczny model biologicznego oscylatora - układu otwartego w stanie dalekim od równowagi termodynamicznej, typu struktury dysypatywnej Prigogine'a. W modelu tym koherentne oddziaływania dalekiego i bliskiego zasięgu prowadzą do kooperatywnych przejść fazowych i emisji wymuszonej z ekscimerów (ekscimerów) zasad azotowych DNA. Autorzy wykazali, że równanie opisujące zanik fotoindukowanej luminescencji jest spełnione wtedy i tylko wtedy, gdy między oscylatorem,

\*Instytut Fizyki WSP Kraków ul. Podchorążych 2  
Zakład Biofizyki i Fizyki Ciała Stałego

a generowanym polem elektromagnetycznym istnieje sprzężenie zwrotne stabilizujące częstość drgań oscylatora (coherent feed back). Ogólne rozwiązanie tego równania pozwala wyznaczyć wykładnik potęgowy  $\beta$  i związać go parametrami termodynamicznymi oscylatora:

$$\mu(\lambda) = \frac{2kT}{\beta-1}$$

gdzie:  $\mu(\lambda) = \frac{hc}{\lambda} \left(1 - \frac{T}{\Theta(\lambda)}\right) - kT$  jest potencjałem chemicznym, a  $\Theta(\lambda)$  temperaturą spektralną (barwową) układu emitującego. Wydaje się, że fotoindukowana luminescencja nie jest związana ze specyficznym chromoforem, tak jak np. opóźniona luminescencja fotosyntetyczna z chlorofilem a, lecz ze zdolnością biostruktur do rezonansowego oddziaływania z fotonami [5]. Ostatnie badania wskazują, że pomiary kinetyki i natężenia tej niespecyficznego luminescencji mogą okazać się użyteczne w diagnostyce komórek zdrowych i nowotworowych [1, 3], w określaniu synchronizacji podziałów komórkowych [6], ocenie walorów farmakologicznych roślin leczniczych [7] oraz w gleboznawstwie i ochronie środowiska [8].

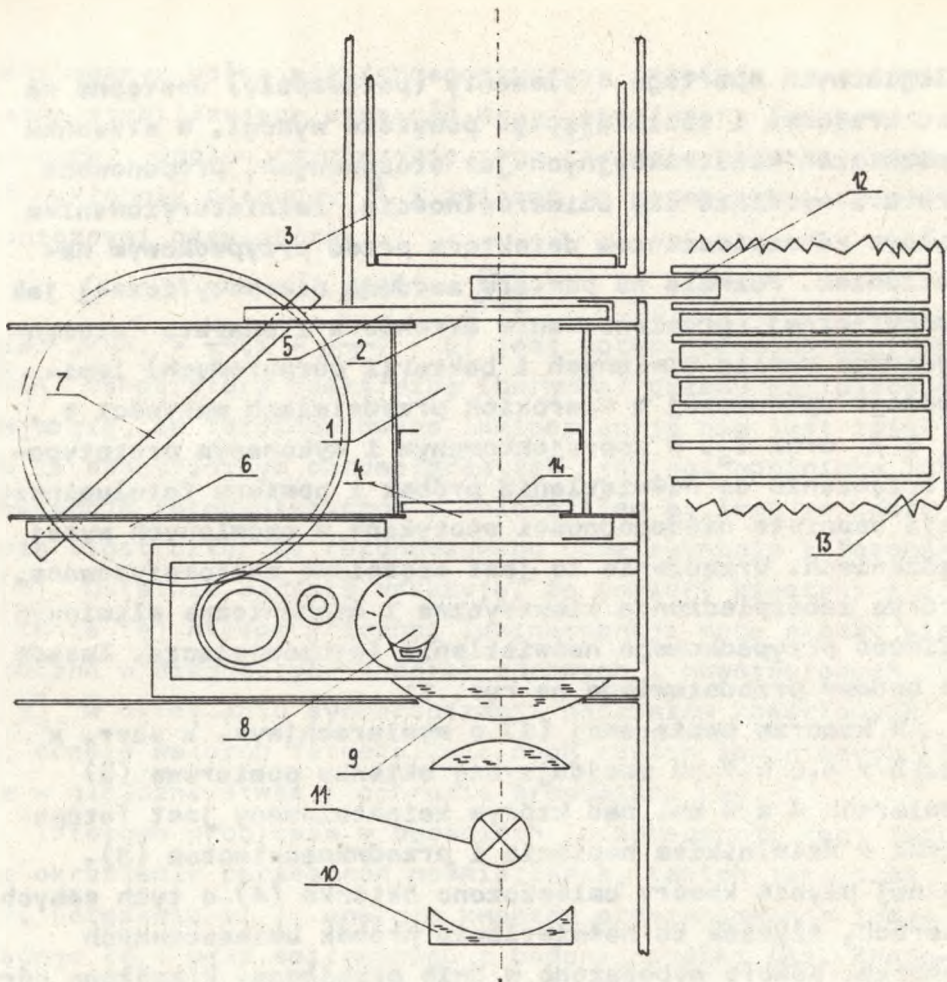
Istotnym problemem w badaniach luminescencji tego typu jest określenie parametrów naświetlania, takich jak: czas ( $t_0$ ), natężenie ( $I_0$ ), energia kwantów promieniowania indukującego ( $\lambda_0$ ) oraz emitowanego z badanej próbki ( $\lambda$ ). Znajomość tych parametrów, możliwość ich utrzymania na zadanym poziomie wartości lub dowolnej zmiany wynika w znacznej mierze z rozwiązań metodyczno-konstrukcyjnych aparatury użytej do indukowania i pomiaru luminescencji. W dotychczas stosowanych zestawach pomiarowych warunki spełniające powyższe wymagania traktowano marginesowo, w związku z czym brak jest optymalnych rozwiązań konstrukcyjnych [1, 6].

#### ZASADA BUDOWY I DZIAŁANIA

W niniejszej pracy podjęto próbę skonstruowania prostego urządzenia do fotoindukowania luminescencji materiałów

biologicznych opartego o elementy (podzespoły) dostępne na rynku krajowym i spełniającego powyższe wymogi. W stosunku do rozwiązań konstrukcyjnych już stosowanych, proponowana aparatura wyróżnia się uniwersalnością, zminiaturyzowaniem i pełnym zabezpieczeniem detektora przed przypadkowym naświetleniem. Pozwala na pomiary zarówno niespecyficznej jak i specyficznej (promieniowanie Strehlera z aparatu fotosyntetycznego roślin zielonych i bakterii purpurowych) luminescencji opóźnionej w szerokich przedziałach wartości  $t_0$ ,  $\lambda_0$  i  $\lambda$  oraz  $I_0$ . W zaprojektowanym i wykonanym prototypowym urządzeniu do naświetlania próbek i pomiaru fotoluminescencji usunięto niedogodności spotykane w omówionych wyżej urządzeniach. Urządzenie to jest częściowo zautomatyzowane, w którym zabezpieczenia elektryczne i mechaniczne eliminują możliwość przypadkowego naświetlenia fotopowielacza. Zasadę jego budowy przedstawiło na rys. 1.

W komorze pomiarowej (1) o wymiarach (wys. x szer. x głęb.) 5 x 4,5 x 7 cm znajduje się okienko pomiarowe (2) o wymiarach 4 x 4 cm, nad którym zainstalowany jest fotopowielacz z dzielnikiem napięcia i przedwzmacniaczem (3). W dolnej płycie komory umieszczono okienko (4) o tych samych wymiarach, służące do naświetlania próbek umieszczonych w komorze. Komorę wyposażono w dwie przesłony. Przesłona górna (5) zabezpiecza fotopowielacz przed uszkodzeniem podczas naświetlania badanego materiału. Przesłona dolna (6) zabezpiecza fotopowielacz przed dodatkowym oświetleniem podczas zliczania impulsów. Przesłony są sprzężone ze sobą dźwignią (7) i mogą wykonywać ruchy przeciwne. Pod przesłoną dolną umieszczono migawkę z regulowanym czasem jej otwarcia (8). Możliwe jest otwarcie migawki na czas 1/25, 1/50, 1/100, 1/250 lub 1/500 sekundy oraz na dowolnie długi czas, który w tym przypadku musi być mierzony stoperem. Następnym elementem jest układ optyczny składający się z kondensatora (9) i zwierciadła wklęsłego (10). Jako źródła światła (11) użyto



Rys.1. Schemat budowy urządzenia do pomiarów fotoindukowanej luminescencji

Fig.1. Scheme of the device for photoinduced luminescence measurements

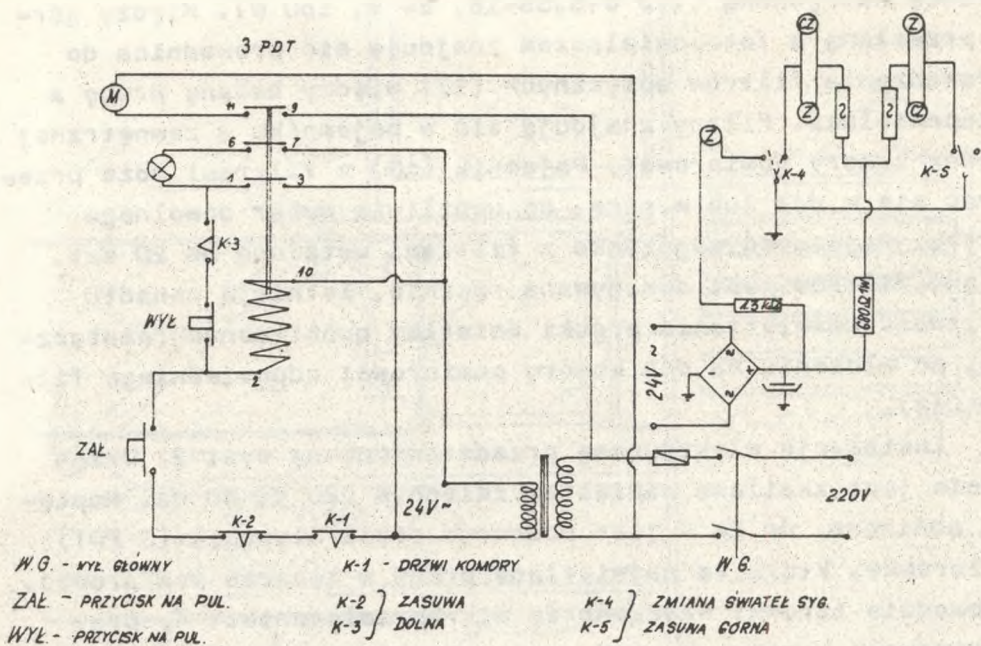
Рис.1. Блок-схема установки для измерения фотоиндуцированной люминесценции

żarówkę halogenową (typ G-6.35-15, 24 V, 150 W). Między górną przesłoną a fotopowielaczem znajduje się prowadnica do wprowadzania filtrów optycznych (12) między badaną próbkę a fotopowielacz. Filtry znajdują się w pojemniku w zewnętrznej części komory pomiarowej. Pojemnik (13) z filtrami może przesuwac się w dół lub w górę, co umożliwia wybór dowolnego filtra. Pojemność magazynka z filtrami ustalono na 20 szt. Zmiana filtrów jest dokonywana ręcznie. Istnieje ponadto możliwość naświetlania próbki światłem quasi-monochromatycznym, po włożeniu na dno komory pomiarowej odpowiedniego filtra (14).

Instalację elektryczną przedstawiono na rys. 2. Urządzenie jest zasilane napięciem zmiennym 220 V, 50 Hz. Napięcie obniżone do 24 V jest podawane przez stycznik (3 PDT) na żarówkę, którą są naświetlane próby w komorze pomiarowej. W obwodzie żarówki włączone są mikroprzełączniki:  $K_1$  przy drzwiczkach komory,  $K_2$  i  $K_3$  przy przesłonie dolnej oraz  $K_4$  i  $K_5$  przy przesłonie górnej. Całość jest uruchamiana włącznikiem głównym "WG", obwód żarówki jest sterowany przyciskami oznaczonymi "zał" i "wył" umieszczonymi na pulpicie sterowniczym.

## ZABEZPIECZENIA FOTOPOWIELACZA

Najbardziej czułym, a zarazem najbardziej narażonym na zniszczenie elementem jest fotopowielacz. Dlatego też głównie zwrócono uwagę na zabezpieczenie tego elementu przed przypadkowym naświetleniem. Zadanie to spełniają mikroprzełączniki umieszczone w obwodzie, sprzężone mechanicznie z ruchem przesłon. Wyłączenie żarówki jest możliwe tylko w przypadku, gdy górna przesłona osłania fotopowielacz oraz gdy są zamknięte drzwi komory pomiarowej. W przypadku nieznacznego ruchu zmierzającego do odsłonięcia fotopowielacza, mikroprzełączniki  $K_2$ ,  $K_3$  wyłączają zasilanie żarówki. Taką samą rolę spełnia mikroprzełącznik  $K_1$  od drzwi komory po-



Rys.2. Schemat instalacji elektrycznej urządzenia do pomiarów fotoindukowanej luminescencji

Fig.2. Electric system of the device for photoinduced luminescence measurements

Рис.2. Схема электрического оборудования установки для измерения фотоиндуцированной люминесценции

miarowej. Dodatkowo drzwi komory pomiarowej są zabezpieczone mechanicznie za pomocą zasuwki. Uniemożliwia to otwarcie drzwi komory w przypadku, gdy otwarta jest przesłona górna. Urządzenie jest wyposażone w układ sygnalizacyjny, składający się z diod świecących, informujący, które z okienek komory pomiarowej jest otwarte. Zapalone światło zielone w górnym rzędzie informuje, że otwarta jest przesłona górna i możliwy jest pomiar zliczania fotonów. Równocześnie w dolnym rzędzie świeci się lampka czerwona, co oznacza, że okienko komory służące do naświetlania jest zasłonięte przesłoną dolną. W tym przypadku mikroprzełączniki nie pozwalają na włączenie źródła światła. Włączone światło czerwone w górnym rzędzie informuje, że okienko fotopowielacza jest zasłonięte górną przesłoną. W dolnym rzędzie świeci się lampka zielona, co oznacza, że otwarta jest część naświetlająca. Przy tej sygnalizacji możliwe jest zaświecenie żarówki tylko po zamknięciu drzwi komory pomiarowej. Nawet najmniejszy ruch powodujący przesunięcie przesłony lub drzwi komory pomiarowej powoduje, za pomocą mikroprzełączników, wyłączenie obwodu zasilającego żarówkę.

Omówione urządzenie jest stosowane do pomiarów w Zakładzie Biofizyki i Fizyki Ciała Stałego w WSP w Krakowie.

Wpłynęło do Redakcji 30 września 1985r.

#### Literatura

- [1] Popp F.A., Ruth B., Bohm J., Grass J., Groling G., Rattemeyer M., Wulle P., *Collective Phenomena*, **3**, 187 (1981).
- [2] Li K.H., Popp F.A., *Phys. Letters* **93 A**, 262 (1983).
- [3] Schamhart D., R van Vijk, Slawinski A., *Cancer Res.* w druku (1986).
- [4] Li K.H., *Laser Elektro-Optik*, **3**, 32 (1981).
- [5] Popp F.A., *Electromagnetic Bioinformation*, red. Popp F.A., Becker G., König H., Peschka W., Urban und Schwarzenberg, Munich 1979, str. 123-149.

- [6] Chwirot B., Dygdała E., Chwirot S., Cytobios 1985.
- [7] Teubner R., Zur Qualitätsbestimmung von Nutzpflanzen, insbesondere Medicinalpflanzen, mit Hilfe der ultraschwachen Photonenemission. Dissertation Gottingen 1983.
- [8] Sławiński J., Puzyra W., Sławińska D., Photochem-Photo-biol. 28, 75-81, 459-463 (1978).

J. Chmura, J. Sławiński

The device for measurements of photoinduced luminescence

#### SUMMARY

The construction of a simple device for measurements of photoinduced, slowly decaying luminescence from biological samples is described. Construction elements and subsystems available at the domestic market are mainly used. The device has an automatic protection against the accidental illumination of the photomultiplier and a container with 20 optical filters for the spectral analysis of luminescence and the filter's compartment for the monochromatic illumination.

Я.Хмура, Я.Славиньски

Установка для измерения фотоиндуцированной люминесценции

#### РЕЗЮМЕ

В статье описывается схема установки для измерения фотоиндуцированной люминесценции биологических проб. Для ее монтажа авторы использовали доступные в стране материалы. Установка имеет автоматическую систему защиты фотоумножителя перед облучением, а также подвижной резервуар с 20 фильтрами для спектрального анализа. В ней имеется также специальное место для фильтра монохроматического облучения.