

А. И. Журавлёв

КВАНТОВАЯ БИОФИЗИКА

ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

СВЕЧЕНИЕ ЖИВЫХ ТКАНЕЙ



ИЗДАТЕЛЬСТВО

БИНОМ

А. И. Журавлев

КВАНТОВАЯ БИОФИЗИКА

ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

4-е издание
переработанное и дополненное



Москва
БИНОМ. Лаборатория знаний
2011

УДК 577.3.08
ББК 28.071
Ж91

Рецензенты:

зав. каф. радиобиологии МГАВМиБ им. К. И. Скрябина, профессор,
д-р биол. наук *Лысенко Н. П.*;

заслуженный деятель науки РФ, академик АЕН РФ, главный научный
сотрудник НИИ трансплантологии и искусственных органов, д-р мед.
наук, профессор *Цытин А. Б.*

Журавлев А. И.

Ж91 Квантовая биофизика животных и человека : учебное пособие / А. И. Журавлев. — 4-е изд., перераб. и доп. — М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2011. — 398 с. : ил.

ISBN 978-5-9963-0448-6

Книга посвящена актуальной проблеме исследования роли свободнорадикальных процессов, активных форм кислорода и антиоксидантных систем в метаболизме животных и человека. В ней представлен материал, который касается многих аспектов этого научного направления: начиная с молекулярных механизмов, связанных с генерацией и ликвидацией свободных радикалов, среди которых в клетках доминируют активные формы кислорода, и заканчивая медикаментозными рекомендациями. Изложенный материал представляет большой интерес для студентов-биофизиков (молекулярных биофизиков) и студентов медицинских специальностей.

УДК 577.3.08
ББК 28.071

**По вопросам приобретения обращаться:
«БИНОМ. Лаборатория знаний»
Телефон: (499) 157-5272
e-mail: binom@Lbz.ru, <http://www.Lbz.ru>**

Оглавление

Часть I. Спонтанное сверхслабое свечение (биохемилюминесценция) тканей, клеток и биосубстратов животных	3
Введение	3
Глава 1. Установки и методы измерения спонтанной биохемилюминесценции	9
1.1. Метод Б.Н. Тарусова и установка для измерения спонтанного сверхслабого свечения тканей и клеток животных.	9
1.2. Чувствительность и рабочие характеристики биохемилюминометров.	14
Глава 2. Свободнорадикальные процессы	30
2.1. Физические свойства свободных радикалов	30
2.2. Свободные радикалы в биологии (свободнорадикальная биология)	36
2.2.1. Открытие Л. Михаэлисом регулируемых ферментативных процессов с участием свободнорадикальных форм дыхательных ферментов	36
2.2.2. Открытие Б. Н. Тарусовым неферментативного свободнорадикального окисления ненасыщенных жирных кислот в тканях животных и человека	37
2.3. Свободнорадикальное окисление (СРО) ненасыщенных липидов	37
2.3.1. Реакционная способность кислорода и ненасыщенных жирных кислот	37
2.3.2. Этапы свободнорадикального окисления.	40
2.3.3. Влияние продуктов СРО на липиды и мембраны	43
2.3.4. Обрыв цепей и торможение СРО	45
Глава 3. Спонтанная биохемилюминесценция тканей животных	55
3.1. Энергетика синтеза ЭВС	55
3.2. Количественная оценка хемилюминесцентного процесса	58

3.3.	Открытие Таппеля	62
3.4.	Излучатели (эмиттеры, люминофоры)	64
3.5.	Тушители	69
3.6.	Активаторы	83
Глава 4.	Двухфазная, усиливающая спонтанную биохемилюминесценцию, белкововодно-липидная система	87
4.1.	Спонтанная биохемилюминесценция липидов животных и человека	87
4.1.1.	Спонтанное сверхслабое свечение — хемилюминесценция растительных масел в определении их антиокислительного потенциала	94
4.2.	Двухфазная система	104
Глава 5.	Двухуровневая биоэнергетика животных	109
5.1.	Двухуровневая биоэнергетика светляка	109
5.2.	Двухуровневая биоэнергетика животных	111
5.2.1.	Антиоксиданты в регуляции деления ДНК	115
5.2.2.	Косвенные доказательства участия ЭВС в метаболизме животных	118
Глава 6.	Спонтанное сверхслабое свечение — биохемилюминесценция и электронные возбужденные состояния в норме и патологии.	124
6.1.	Эмоциональный стресс	125
6.2.	Физические нагрузки	130
6.3.	Ожирение	135
6.4.	Атерогенез и атеросклероз	139
6.5.	Старение и продолжительность жизни.	143
6.6.	Скорость роста.	150
6.7.	Заживление ран (регенерация)	152
6.8.	Канцерогенез.	154
6.9.	Рак	158
6.10.	Воспаление	163
6.11.	Фагоцитоз	164
6.12.	Криз отторжения.	173
6.13.	Аллергены	175
6.14.	Принципы определения антиокислительной активности (АОА) и эффективности тушителей	176
6.15.	Заключение.	178
Часть II.	Фотобиофизика.	199
Глава 1.	Типы фотофизических и фотобиологических процессов	201
1.1.	Фотофизические процессы	201

1.2.	Фотобиологические процессы	202
1.2.1.	Действие света на растения	202
1.2.2.	Действие света и УФ-излучения на организм животных	202
1.2.3.	Действие ультрафиолетового излучения на клетку.	203
1.2.4.	Абиогенный фотосинтез	205
1.2.5.	Фотодинамическое действие	208
Глава 2.	Поглощение видимого (свет), инфракрасного и ультрафиолетового участков спектра электромагнитных излучений (ЭМИ).	210
2.1.	Измерение интенсивности поглощения	212
2.2.	Спектры поглощения биологически важных соединений.	216
2.3.	Гипохромный эффект	221
Глава 3.	Трубка Л. А. Кубецкого — фотоэлектронный умножитель (ФЭУ)	224
3.1.	Конструкция и чувствительность ФЭУ	224
3.2.	Фотокатод. Фотоэффект	226
3.3.	Вторичная электронная — диноотронная эмиссия.	228
3.4.	Фон, сигнал, шум	230
3.5.	Оптимальный режим работы ФЭУ. Счетная характеристика.	232
Глава 4.	Разностная (дифференциальная) двухлучевая спектрофотометрия. Светорассеяние, Раман- и Допплер-эффекты.	234
4.1.	Типы спектров электромагнитных излучений.	234
4.2.	Преимущества дифференциальной спектрофотометрии	236
4.3.	Формирование 2 типов дифференциальных спектров	237
4.4.	Дифференциальный спектр ферментов дыхательной цепи и двухуровневая биоэнергетика животных	238
4.5.	Искажения спектров поглощения	240
4.6.	Эффект Допплера	246
Глава 5.	Индукцированные фотоизлучения (фотолюми- несценция; фотофлуоресценция; замедленная флуоресценция; фотофосфоресценция)	249
5.1.	Три типа изображения процесса возбуждения фотофлуоресценции:	250
5.2.	Блок-схема спектрофлуориметра.	254
5.3.	Количественная спектрофлуориметрия	254

Глава 6.	Флуоресценция мономеров и биополимеров	257
6.1.	Отсутствие флуоресценции нуклеиновых кислот и нуклеотидов и нативных белков	257
6.2.	Флуоресценция аминокислот	257
6.3.	Флуоресценция препаратов денатурированных белков	257
6.4.	Обнаружение А. Л. Таппелем отсутствия флуоресценции нативных белков	260
6.5.	Ультрафиолетовая флуоресценция клеток	262
6.6.	Двухволновая спектрофлуориметрия	263
6.7.	Основные закономерности флуоресценции мономеров и биополимеров	263
Глава 7.	Флуоресцентные метки	265
7.1.	Общие свойства флуоресцентных меток	265
7.2.	Области применения флуоресцентных меток	267
7.3.	Реакция иммунофлуоресценции (РИФ)	269
Глава 8.	Фосфоресценция, замедленная флуоресценция, тушители	272
8.1.	Интеркомбинационная конверсия	272
8.2.	Методы изучения спектров фосфоресценции	274
8.3.	Тушащее действие кислорода и измерение интенсивности дыхания одной отдельной клетки (метод В. Г. Петухова)	277
8.4.	Уравнение Штерна–Фольмера	279
8.5.	Импульсная фотометрия триплет-триплетных переходов	280
Глава 9.	Лазер. Оптико-акустический эффект	283
9.1.	Лазер, конструкция и принцип действия	283
9.2.	Физико-химические механизмы действия лазерного облучения	284
9.3.	Оптико-акустический эффект	285
9.4.	Лазерная спектроскопия комбинационного рассеяния .	288
9.5.	Лазерный гравитометр (интерферометр)	289
Глава 10.	Спектры возбуждения (действия) и фотохимические процессы	291
10.1.	Связь спектра возбуждения со спектром поглощения .	292
10.2.	Фотохимия белков	293
10.3.	Фотохимия нуклеиновых кислот	294
10.4.	Фотодинамическое действие (ФДД)	297
10.5.	Поворотная изомерия в фотобиофизике зрительного процесса	297
10.6.	Фотохимия атмосферы	299

Глава 11. Миграция энергии электронно-возбужденных состояний	301
11.1. Полупроводниковый механизм миграции энергии ЭВС	302
11.2. Экситон. Миграция энергии в проводниках	304
11.3. Термолюминесценция	304
11.4. Индуктивно-резонансная, дистанционная миграция энергии	305
11.5. Спектры возбуждения и миграция энергии в хлорофилле и зеленом листе	306
11.6. Расшифровка О. Г. Варбургом состава дыхательных ферментов по спектрам их действия	308
Глава 12. Поляризация электромагнитных излучений	310
12.1. Некоторые свойства электромагнитных излучений	310
12.2. Генерация излучения диполем.	311
12.3. Дихроизм по поглощению вторичной (кристаллической) структурой белка	313
12.4. Поляризация люминесценции за счет избирательного поглощения осцилляторами	314
12.5. Деполяризация люминесценции.	315
12.6. Спектр возбуждения тирозина по поляризации его флуоресценции	317
12.7. Поворот плоскости поляризации при полном отражении	318
12.8. Двойное лучепреломление	319
12.9. Оптическое вращение (ОВ) плоскости поляризации в оптически активном веществе	320
12.10. Эффект Керра в высокочастотных прерывателях поляризованного света	323
12.11. Поляризационный микроскоп	323
Глава 13. Оптическая однородность — хиральность биологической среды	325
Часть III. Ультразвуковое свечение (сонолюминесценция)	331
Глава 1. Гипотезы возникновения ультразвукового свечения	332
1.1. Физические основы действия ультразвука терапевтических интенсивностей.	332
1.2. Гипотезы возникновения ультразвукового свечения.	334
1.2.1. Гипотеза микроразрядов.	334
1.2.2. Баллоэлектрическая гипотеза	334
1.2.3. Механохимическая гипотеза	335
1.2.4. Гипотеза «горячих зон»	335

1.2.5. Структурная гипотеза	337
1.2.6. Гипотеза ударных волн	337
Заключение	337
Глава 2. Методы исследования ультразвукового свечения	339
2.1. Кюветы для измерения ультразвукового свечения	339
2.2. Измерение интегральной интенсивности и кинетики ультразвукового свечения	344
2.3. Спектральные исследования ультразвукового свечения	345
Глава 3. Ультразвуковое свечение при низких интенсивностях ультразвука	347
3.1. Общие закономерности УЗ-свечения при низких интенсивностях ультразвука	347
3.2. Влияние внешнего атмосферного давления	351
3.3. УЗ-свечение в оценке изменений физико-химических свойств водной фазы под влиянием различных веществ и температуры.	353
3.4. Спектры УЗ-свечения воды	360
3.5. Ультразвуковое свечение воды и его усиление люминолом в области пороговой интенсивности нефокусированного и фокусированного ультразвукового поля	362
Заключение	368
Глава 4. Ультразвуковое свечение в биологии и медицине	369
4.1. УЗ-свечение сыворотки крови	369
4.2. УЗ-свечение биологических тканей	373
Заключение	375
Часть IV. Хемилюминесцентный анализ	381
Применение инициаторов (чаще всего перекиси водорода или перманганата)	382
Применение избытка катализаторов (ионов металлов переменной валентности: меди, железа, кобальта)	382
Хемилюминесцентные зонды (люминол, люцигенин)	384
Биолюминесцентный зонд люциферин – люцифераза для определения концентрации АТФ в системе.	385
Иммунохемилюминесцентный анализ (ИХА)	386
Приложение	390
Список сокращений.	392
Предметный указатель	393

Часть I

Спонтанное сверхслабое свечение (биохемилюминесценция) тканей, клеток и биосубстратов животных

Введение

Квантовой биофизикой (квантовой биологией) является раздел биологии, изучающий участие в метаболизме эндогенных электронных возбужденных состояний (ЭВС) и излучаемых ими квантов света [86, 289].

Основоположником квантовой биофизики животных является Б. Н. Тарусов, который вместе с сотрудниками в 1961 г. открыл эндогенное, спонтанное сверхслабое прижизненное свечение — биохемилюминесценцию в области 360–1200 нм с поверхности органов — мозга, мышц и печени крыс и кроликов (табл. 1). Тем самым было показано участие в метаболизме животных ЭВС, излучающих кванты видимого света [207, 284].

Таблица 1

Прижизненная спонтанная хемилюминесценция органов крыс:
имп./см²·мин, $t = 37^\circ\text{C}$

Орган	Фон установки	Время регистрации сверхслабого свечения, мин	
		10	60
Печень	$23 \pm 0,7$	$43 \pm 0,8$	$54 \pm 0,7$
Головной мозг	$26 \pm 0,7$	$47 \pm 0,5$	$47 \pm 0,9$
Мышцы брюшной стенки	$28 \pm 0,7$	$43 \pm 1,7$	$41 \pm 0,6$
Кишечник	$28 \pm 0,7$	$39 \pm 0,4$	$41 \pm 0,3$

В 1961 г. обнаружено спонтанное свечение (хемилюминесценция) ненасыщенных жирных кислот, как свободных, так и входящих в состав жиров и фосфолипидов [208]. Было установлено, что липиды являются основным энергетическим субстратом электронного возбуждения и спонтанной биохемилюминесценции тканей животных.

Именно липиды оказались нашим «внутренним солнцем», генерирующим ЭВС и излучающим свет. Свечение липидов, выделенных из тканей, было на 1–2 порядка (10^2 кв/с·см²) интенсивнее, чем свечение (10^1 кв/с·см²) органов животных в том же диапазоне (360–1200 нм).

Проблема участия квантов света в метаболизме животных была поставлена в работах В. В. Лепешкина [270] и А. Г. Гурвича [60].

В 1933 г. В. В. Лепешкин обнаружил потемнение (засветку) фотопластинок, лежащих на биопрепаратах. Он считал, что это ультрафиолетовое излучение возникает при гибели клеток и коагуляции их протоплазмы, и назвал его некробиотическим.

А. Г. Гурвич предполагал, что если белки активно поглощают ультрафиолет (УФ) (160, 230 и 280 нм), то они «должны спонтанно излучать в той же области». Он создал **гипотезу** митогенетического излучения, согласно которой попадание в клетку по крайней мере одного УФ-кванта вызывает ее деление (митоз). В свою очередь, делящаяся клетка за счет полимеризации белков сама излучает квант УФ. По мнению А. Г. Гурвича, липиды не излучают.

Эта гипотеза в свое время стала очень популярной и стимулировала попытки зарегистрировать митогенетическое излучение современными оптическими методами, что не увенчалось успехом. Открытое в 1961 г. прижизненное метаболическое спонтанное сверхслабое свечение тканей млекопитающих отличается от предполагаемого А. Г. Гурвичем излучения по всем параметрам (табл. 2).

Таблица 2

**Сравнительная оценка митогенетического излучения
и сверхслабого свечения тканей**

Критерии	Митогенетическое (предполагаемое) излучение (по Гурвичу А. Г.)	Метаболическое сверхслабое свечение (по Тарусову Б. Н.)
Спектр	160–320 нм	360–1200 нм
Энергетический субстрат	Белки	Липиды
Биологическая роль	Митоз	Биоэнергетика
Метод изучения	Субъективный Визуальный	Объективный — с помощью электронно-оптической установки [1, 142]

Общебиологическое значение открытия Б. Н. Тарусова заключается в преодолении разрыва между биологией и фундаментальными науками — физикой и химией. Не случайно Б. Н. Тарусов считал, что биофизика — это физико-химия биологических процессов и систем. Основанием для этого определения являются представления о том, что химические, физико-химические и биохимические процессы осуществляются в основном активными формами вещества:

а) ионами и диполями $R^+ R^-$, химическая активность которых определяется их электрическим полем, создаваемым некомпенсированными электрическими зарядами;

б) свободными радикалами, химическая активность которых определяется магнитным полем, создаваемым их неспаренными электронами: $R^\bullet, R\uparrow$;

в) электронными возбужденными состояниями (ЭВС) R^* , химическая активность которых определяется потенциальной энергией электрона, переведенного на более высокий энергетический (низший незаполненный) уровень.

Поэтому биофизика должна рассматривать не три типа частиц: электроны, протоны и нейтроны [46], а еще и кванты. До открытия Б. Н. Тарусова, т. е. до 1961 г., квантовые процессы не учитывались при изучении нормального метаболизма животных. Таким образом, до этого времени исключалось из рассмотрения 30% физико-химических процессов, протекающих в тканях животных на электронных возбужденных уровнях. Это делало биологию весьма ограниченной научной дисциплиной. Приблизительно так же, как до открытия Л. Гальвани биология обходилась без учета электрических явлений и роли ионов и диполей в организме животных. Открытия Л. Гальвани и Б. Н. Тарусова можно считать равновеликими.

Решением Первого Всемирного учредительского биофизического конгресса в 1961 г. в Стокгольме биофизика была разделена на следующие 3 раздела: биофизика клетки, молекулярная и биофизика систем, т. е. даже в биофизике до 1961 г. отсутствовал раздел квантовой биофизики.

В монографии М. В. Волькенштейна «Молекулы и жизнь» (1965 г.) неоднократно повторялось, что внутренняя среда живого организма является темновой, т. е. лишенной и квантов, и возбужденных электронных состояний.

Еще в 1960 г. А. Сент-Дьердьи писал, что никому до сих пор не удалось обнаружить при окислительном метаболизме квантов с большой энергией, характерной для видимого диапазона. Он предлагал искать их в реакциях в липидной среде [197].

Отсутствие сведений об экспериментальном обнаружении и изучении квантовых процессов в организме тормозило появление квантовой биофизики как одной из дисциплин биологии.

К шестидесятым годам были созданы чувствительные датчики слабых световых потоков — фотоэлектронные умножители (ФЭУ) с внутренними фотокатодами. Их основной недостаток — высокий уровень тепловых шумов, значительно превышающих световой сигнал — излучение тканей животных.

Для снижения термозумов Р. Ф. Васильев [41] и Ю. А. Владимиров [51] пытались охлаждать ФЭУ, опуская его в сосуд Дюара с жидким азотом и двумя специальными кварцевыми окнами в его стенках. Тем не менее происходило неизбежное светорассеяние и поглощение на этих двух окнах и в слое кипящего азота при прохождении света от источника к фотокатоду, и сверхслабые свечения не были зафиксированы [51].

Экспериментальное обнаружение спонтанного свечения тканей животных, которое является по интенсивности сверхслабым (невидимым невооруженным глазом), стало возможным благодаря созданию установки с повышенной чувствительностью [79, 92, 153, 207].

Б. Н. Тарусовым, А. И. Поливодой, А. И. Журавлевым стеклянный сосуд Дюара был заменен пенопластовым сосудом, в отверстие в стенке которого вдавливалось окно — сосок ФЭУ. Тем самым исключались и 2 рассеивающих окна, и слой кипящего азота, что и дало возможность зафиксировать свечение тканей животных (рис. 1).

Приоритет этого открытия подтверждается многими исследователями [13], в том числе академиком Ю. А. Владимировым в его монографии [47] и в решении АН СССР (см. Приложение на с. 390).

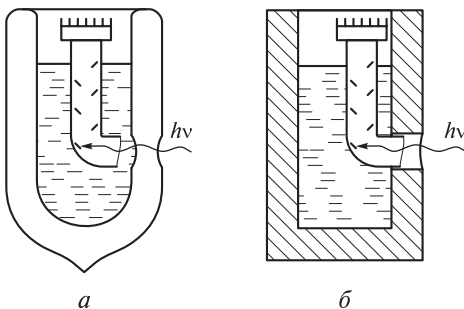


Рис. 1. Конструкция блока датчиков для измерения: *a*) слабых световых сигналов с $J > 10^5$ кв/с·см² по методу Р. Ф. Васильева (1959), Ю. А. Владимиров (1959) [31]; *б*) сверхслабых световых потоков с $J = n \cdot 10^1 - n \cdot 10^3$ кв/с·см² по методу Б. Н. Тарусова, А. И. Журавлева (1961) [1]

Открытие спонтанной биохемилюминесценции завершило формирование квантовой биофизики как дисциплины, состоящей из четырех основных разделов:

- I. *Спонтанное сверхслабое свечение (ССС)*, или биохемилюминесценция тканей животных, — явление, которое заключается в генерации излучения *эндогенных*, инициированных химическими реакциями электронных возбужденных состояний (ЭВС). СССР дает возможность прямого прижизненного определения концентрации эндогенных ЭВС и динамики их превращений в процессе метаболизма.
- II. *Фотобиофизика* изучает резонансное поглощение электромагнитного излучения оптического диапазона молекулами биосубстратов с последующим индуцированием ЭВС и их излучением в виде флуоресценции или фосфоресценции. Такая индуцированная люминесценция дает возможность определять молекулярную структуру и физико-химические свойства поглощающих молекул и их ЭВС, а также их изменения под влиянием различных физических и химических воздействий.
- III. *Ультразвуковое свечение* дополняет эти разделы, так как позволяет изучать свойства воды как основной *среды* живых организмов и среды их обитания.
- IV. *Хемилюминесцентный анализ*.

Терминология

Целесообразно однозначно использовать термины, определяющие свечение биологических объектов.

Усиливающие биохемилюминесценцию

Инициатор — химически активное вещество, создающее первичные активные центры и тем увеличивающее скорость реакции (ω), поставляющее активные продукты и изменяющее квантовый выход возбуждения (Φ_v), например, перекиси.

Индуктор — физический энергетический фактор (ультразвук, ионизирующая радиация), создающий—индуцирующий, новые активные центры и изменяющий ω .

Катализатор — вещество, ускоряющее биохемилюминесцентную реакцию, например ионы меди, железа, кобальта.

Стимулятор (бактерии, зимозан, кристаллы бария) — агент, на который фагоциты реагируют потоком кислородных радикалов, что

является естественным защитным (спонтанным) физиологическим процессом.

Активатор — вещество, имеющее высокий квантовый выход излучения и усиливающее свечение за счет физического процесса миграции («перехвата») энергии ЭВС с первично-возбужденных центров (эргостерин, акридиновый оранжевый, лантаноиды). Изменяет $\Phi_{\text{изл.}}$ и не влияет на ω и $\Phi_{\text{возб.}}$.

Зонд — вещество, реагирующее с активными метаболитами (перекисями, радикалами) с последовательным образованием собственных перекисей и ЭВС и высвечиванием с высоким квантовым выходом излучения (люминол, люцигенин).

Триггер — биологический агент, запускающий биолюминесцентную реакцию (например, АТФ), возможно, по механизму типа аллостерической активации.

Ослабляющие биолюминесценцию

Ингибитор — антиокислитель — химически активное вещество, тормозящее реакцию и снижающее ω (токоферол, витамин К, глутатион).

Разбавитель — инертное вещество (например, холестерин и насыщенные жирные кислоты), заменяющее энергетический субстрат реакции (ненасыщенные жирные кислоты, фосфолипиды) и тем снижающее ω .

Тушитель — вещество, имеющее более низкий квантовый выход излучения, чем первичные ЭВС, и снижающее суммарную интенсивность свечения за счет физического процесса миграции на него энергии первичных ЭВС, снижая $\Phi_{\text{изл.}}$ (каротин, O_2 , H_2O , CO_2 , гем).

Светофильтр — вещество, поглощающее свет.

Задания

1. Спектр, субстрат и биологическая роль обнаруженного Б. Н. Тарусовым прижизненного свечения тканей животных.
2. Каковы представления о мощности биоэнергетики до открытия метаболического свечения.
3. Каким было усовершенствование датчика, позволившее обнаружить свечения тканей животных.

Глава 1

Установки и методы измерения спонтанной биохемилюминесценции

1.1. Метод Б. Н. Тарусова и установка для измерения спонтанного сверхслабого свечения тканей и клеток животных

Спонтанной биохемилюминесценцией мы считаем свечение живых тканей, клеток и нативных биосубстратов, в которых не изменена искусственно концентрация эндогенно генерируемых электронно-возбужденных состояний (ЭВС).

Несколько труднее определить понятия — сверхслабые и слабые световые потоки. К сверхслабым мы относим невидимые невооруженным глазом световые потоки с интенсивностями, очевидно, в пределах $n \cdot 10^1 - n \cdot 10^3$ квантов/с·см², попадающих на фотокатод ФЭУ. К слабым следует отнести световые потоки, которые адаптируемым в темноте глазом улавливаются как слабое мерцание. Их интенсивность, очевидно, порядка $10^5 - 10^6$ квантов/с·см².

Наиболее чувствительными датчиками (детекторами) слабых и сверхслабых световых потоков являются созданные в 1934 г. советским инженером Л. А. Кубецким фотоэлектронные умножители — ФЭУ [134]. ФЭУ — электровакуумный прибор, в котором Л. А. Кубецкий создал сопряжение двух принципов: фотоэффекта и вторичной диноотронной эмиссии в электрическом поле и в вакууме. Фотоэлектронный умножитель:

а) детектирует на фотокатоде излучаемый объектом световой сигнал — I_{hv} ;

б) преобразует на фотокатоде световой сигнал (поток квантов) в электрический сигнал (поток первичных фотоэлектронов) за счет фотоэффекта («выбивания» квантами первичных фотоэлектронов на фотокатоде);

в) создает направленный поток электронов за счет приложенной разности потенциалов между фотокатодом и анодом ФЭУ в вакууме;

г) усиливает сигнал в несколько миллионов раз за счет выбивания первичными электронами вторичных электронов (диноотронный эффект) на нескольких вторичных электродах (динодах) (рис. 2).

Величина анодного тока, выходного анодного сигнала — $I_A = I_{hv} P_{ф.к} \sigma^1 \sigma^{n-1} k$ и зависит от:

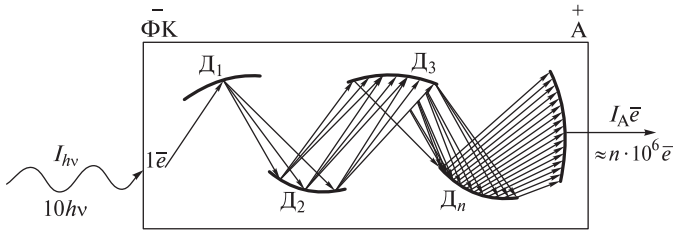


Рис. 2. Фотозлектронный умножитель с внешним фотокатодом:
ФК — фотокатод; А — анод; Д — диноды

$I_{h\nu}$ — интенсивности измеряемого светового сигнала объекта, выражающегося в люменах, или числом квантов, падающих на фотокатод;

$P_{ф.к}$ — квантового выхода фотокатода;

$P_{ф.к} = (\text{число электронов, выбитых из фотокатода}) / (\text{число квантов, падающих на фотокатод})$.

Для современных ФЭУ квантовый выход фотокатодов в различных участках спектра колеблется от 1% (0,01) до 25% (0,25) и в среднем в рабочей области фотокатода может быть принят равным 10% (0,1) (рис. 3).

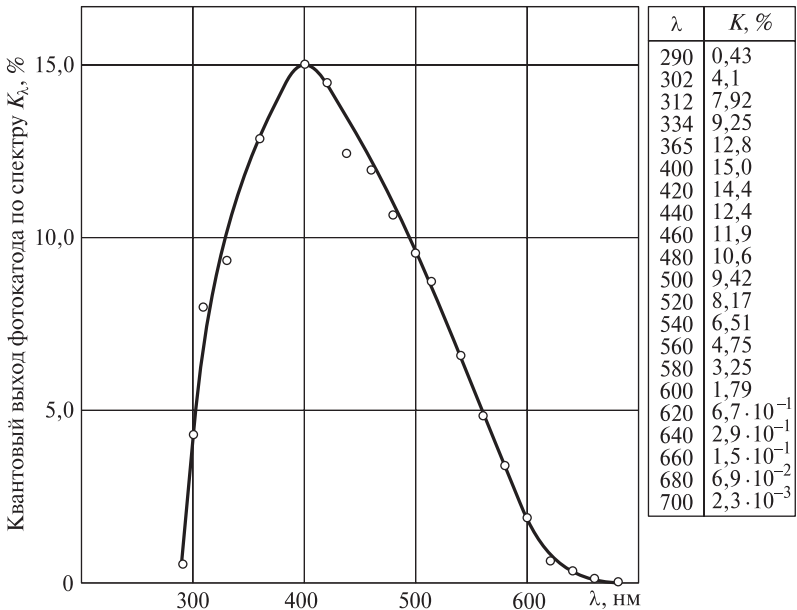


Рис. 3. Спектральная чувствительность (зависимость квантового выхода фотокатода от спектра падающего на фотокатод света) сурьмяно-цезиевого фотокатода: λ — длина волны в нм; K — квантовый выход в %

σ — выход диотронной эмиссии, определяемый отношением:

$\sigma = (\text{число электронов, выбитых из вторичного электрода — динода}) / (\text{число электродов, бомбардирующих динод})$.

В вакууме ФЭУ для большинства применяемых материалов для динодов выход диотронной эмиссии колеблется в пределах: $2 \leq \sigma \leq 4$.

Для первого динода, изготавливаемого из дорогостоящих материалов — фосфида галлия или арсенида галлия, выход первого динода $20 \leq \sigma_1 \leq 40$, достаточен, чтобы почти все первичные фотоэлектроны были зарегистрированы на первом диноде.

n — число вторичных электродов-динодов, которые в современных ФЭУ колеблется от 8 до 22.

k — коэффициент (%) сбора от числа электронов, эмиттируемых предыдущим динодом и улавливаемых на последующем диноде, что зависит от конструкции (формы) динодов.

Попадание на фотокатод каждых десяти квантов дает в среднем на аноде один импульс, формируемый потоком из нескольких миллионов электронов. При $\sigma \approx 3$ $n = 10-18$, число электронов, достигающих анода, превышает число квантов, падающих на фотокатод в несколько миллионов раз.

Величина выходного, конечного сигнала ФЭУ на его аноде (анодный ток, анодная чувствительность) выражается или числом вторичных электронов, или их суммарным зарядом, достигшим анода, в единицу времени — I_A . Для современных ФЭУ интегральная анодная чувствительность равна: 100–1000 ампер на люмен (А/лм), что достаточно для устойчивой регистрации как **суммарного тока**, так и **отдельных импульсов**.

В 1961 г. Б. Н. Тарусовым и его сотрудниками была создана типовая установка для измерения сверхслабых световых потоков от биологических объектов, принципы конструирования которой в настоящее время применяются всеми исследователями и сводятся к следующему [92, 207, 229].

1. Устранение промежуточных поглощающих и рассеивающих поверхностей и сред, что одновременно сокращает путь излучения (сигнала) от биологических объектов к фотокатоду ФЭУ.

2. Максимальное (не более 12 мм) приближение объекта к фотокатоду ФЭУ для увеличения светосбора без применения световодов. Этот принцип был осуществлен и осуществляется теперь применением фотозатворов, что давало возможность работать в освещенном, а не в затемненном помещении, непрерывно контролировать отношение сигнал/фон или интенсивность стандартного образца (светодиод, урановое стекло ЖС-19 и др.).

3. Впервые было применено разделение термобарьером (полиэтиленовой пленкой) блоков ФЭУ и блока объекта, что позволяло при постоянной температуре, а значит, и при постоянном уровне шумов ФЭУ, варьировать температуру исследуемого объекта от 5 °С до 70 °С. Наиболее приемлемым стабилизатором температуры камеры ФЭУ и регулятором температуры камеры объекта оказались водяные термостаты.

4. Выбрано оптимальное расположение объектов исследования (сыворотка, плазма, моча, суспензии клеток) над фотокатодом ФЭУ в цилиндрических кюветах с плоским оптическим дном, площадью, равной или меньшей площади фотокатода, что обеспечивало максимальное приближение и максимальный светосбор $\approx 4\%$, и исключало запотевание фотокатода, теплообмен и нагревание ФЭУ.

5. Применение кассет с граничными светофильтрами позволило определять спектральные характеристики без увеличения расстояния объект–фотокатод (не более 12 мм).

6. Впервые в 1961 г. для регистрации световых потоков была применена аппаратура для изотопного анализа, работающая в импульсном дискретном (квантометрическом) режиме, что и дало возможность регистрировать световые потоки до $\approx n \cdot 10$ квантов/с, попадающих на фотокатод ФЭУ.

Созданная в 1961 г. с использованием указанных принципов установка оказалась на 1–2 порядка чувствительнее применяемых в то время приборов с регистрацией сигнала в токовом режиме и стала типовой для последующих конструкций (рис. 4) [153, 207].

С развитием радиоэлектроники стали широко применять интегральные схемы. Уже к 1974 г. В. С. Маренковым были созданы лабораторные образцы портативных установок для измерения сверхслабых излучений биологических объектов [153].

По заказу биологов наша промышленность к 1964 г. разработала лучшие в мире для того времени малошумящие ФЭУ-42 с внешним фотокатодом. ФЭУ-42 позволили отказаться от охлаждения жидким азотом, что сделало метод доступным для большого количества исследователей. Наличие внешнего фотокатода позволило еще больше сократить расстояние объект–фотокатод и повысить чувствительность установок [153]. К настоящему времени отечественная промышленность сделала еще один революционный шаг с повышением на порядок чувствительности ФЭУ. Созданы отечественные типы: ФЭУ-130 и ФЭУ-140 с внешним фотокатодом и с коэффициентом вторичной эмиссии на первом диноде из фосфида галлия = 20–40 (вместо 2–4). Эти ФЭУ позволили полностью отказаться от охлаждения [92]. Более подробно рассмотрены принципы работы ФЭУ во второй части настоящей монографии в гл. 3.

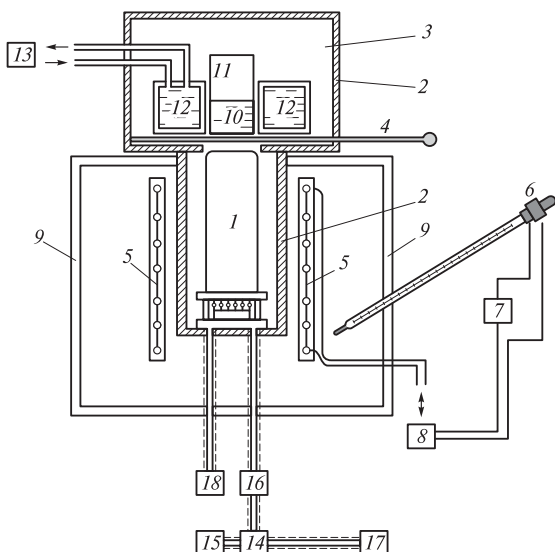


Рис. 4. Блок-схема типовой установки для измерения сверхслабых световых сигналов. 1 — ФЭУ; 2 — светоизолирующий и термостатирующий кожух для ФЭУ; 3 — светоизолированная камера для объекта; 4 — фотозатвор; 5 — испаритель холодильного агрегата для охлаждения ФЭУ; 6 — контактный термометр-терморегулятор; 7 — электронное реле терморегулятора; 8 — электродвигатель компрессора холодильного агрегата; 9 — внешняя свето- и теплоизоляционная камера; 10 — объект; 11 — кювета для объекта; 12 — водяная ячейка термостата для объекта; 13 — водяной ультратермостат; 14 — широкополосный усилитель; 15 — стабилизированный высоковольтный блок питания; 16 — предусилитель; 17 — регистрирующее устройство; 18 — высоковольтный стабилизированный источник питания для ФЭУ

Теперь метод измерения спонтанных сверхслабых световых потоков стал доступен работникам практических клинических и ветеринарных лабораторий.

Методика измерения спонтанного сверхслабого свечения включает следующие основные этапы [95].

1. Подбор стандартного источника излучения (стандарта), лучше всего уранового стекла — ЖС-19 с постоянной интенсивностью излучения, превышающей среднюю интенсивность свечения исследуемых объектов не более чем в 10 раз.

2. Подготовка к регистрации **одновременно** исследуемого опытного образца от больного животного или опытного образца, подвергнутого тому или иному воздействию, и контрольного — от здорового животного, или без воздействия.

[. . .]