

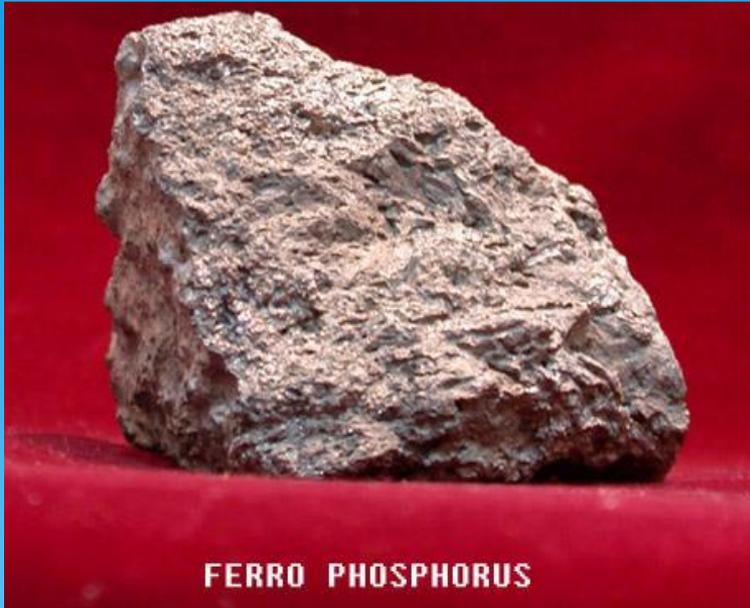
«Люминисцентный анализ»

История.

Начало развития этого метода относится к глубокой древности.

Веками люди наблюдали за свечением в темноте гнилого дерева, насекомых, однако природа этого явления долгое время оставалась нераскрытой.

Рукописные сведения о люминесценции начинаются с Каскариоло, что в 1604 г. синтезировал первую искусственную вещество способное к люминесценции (Болонский фосфор).



FERRO PHOSPHORUS

ЪЕКВЪ ЪНОЪНОВЪ



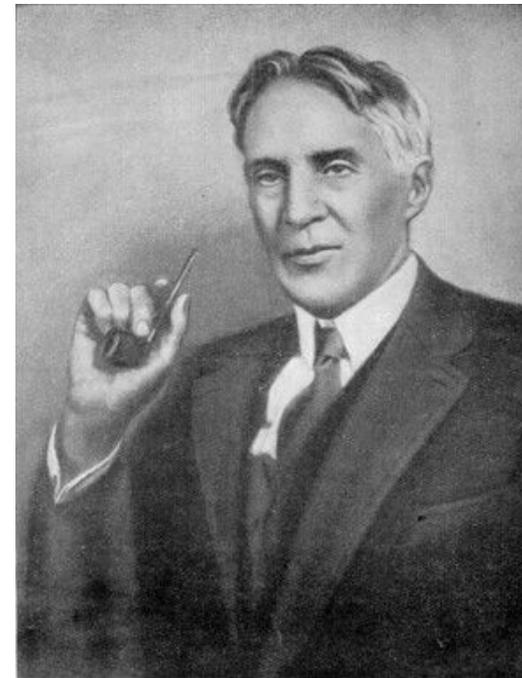
Первый шаг в исследовании люминесценции сделал российский академик В.В. Петров. Он изучал биологическую ткань (гниющий мясо, рыбу и др.). И подошел к проблеме свечения исключительно с химической точки зрения. На основании этих опытов В.В. Петрову удалось отделить хемилюминесценции от фотолюминесценции.

Гершель в 1800 г. открыл инфракрасные лучи. Это навело на мысль о том, что к фиолетовой части спектра примыкает область невидимых лучей, вскоре были выделены и названы ультрафиолетовыми.

В.В.Петров в 1802 г. изобрел дуговую лампу, являлась мощным источником ультрафиолетовых лучей. В конце XIX в. появляются первые диссертационные работы по применению люминесцентного анализа, касающиеся изучения биологических объектов.



В 1903 г. Вуд предложил выделять необходимый для люминесценции спектр лучей, используя для этого специальный фильтр. Пользуясь этим фильтром, автор изучал флуоресценцию кожи, волос, зубов. В 1918 г. он описал флуоресценцию хрусталика глаза человека.



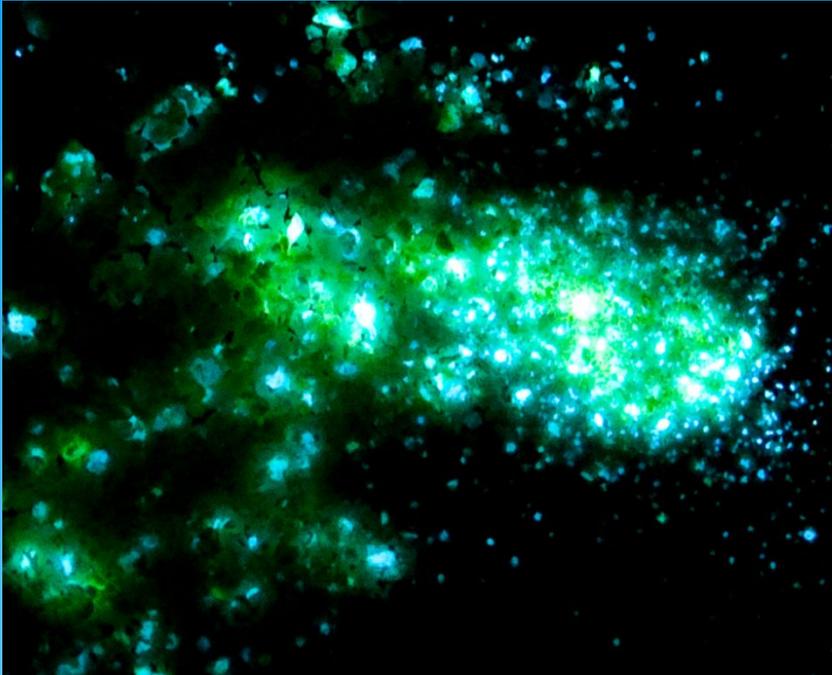


Настоящим толчком к практическому применению люминесцентного анализа в медицине и биологии следует считать введение в методику исследования стеклянных фильтров, появление кварцевых ламп, а впоследствии и изобретение удобной аналитической лампы. Первый патент на ртутную лампу низкого давления полученный русским профессором Репьевим. В 1925 г. фирма "Напау" использовала черное стекло в аналитической кварцевой лампе. Отечественная промышленность выпустила цветные стекла марки УФС, предназначены для выделения ультрафиолетового излучения.

С 20-х годов усиленно развивается научное изучение собственного свечения (первичной люминесценции) биологических тканей.

В этот период исследователи пользовались наиболее простым и легко доступным приемом - непосредственным наблюдением люминесценции исследуемого объекта.

Вторичная люминесценция появляется после окрашивания тканей организма специальными красителями - флуорохромами. Флуорохром, введен в исследуемый объект в незначительных количествах, значительно усиливает свечение и придает ему характерный цвет.



Суть метода.

Основные понятия.

Люминесценция – способность некоторых веществ испускать видимый свет под воздействием различного рода излучений (ультрафиолетового, рентгеновского, лазерного и пр.).

В настоящее время люминесценцией называют неравновесное излучение, избыточное по отношению к тепловому излучению тела, после возбуждения продолжающееся в течение времени, значительно превышающего период световых колебаний ($\sim 10^{-10}$).





В зависимости от вида возбуждения различают следующие типы люминесценции:

- Ионная – вызвана заряженными частицами;
- Катодолюминесценция – возникает при возбуждении атомов электронами (кинескопы, экраны осциллографов);
- Рентгенолюминесценция – возникает при возбуждении атомов рентгеновским и γ -излучением;
- Фотолюминесценция – возникает при возбуждении атомов светом (УФ-лучи и коротковолновая часть видимого света);
- Электролюминесценция – под действием электрического поля;
- Хемилюминесценция – возникает при возбуждении молекул в процессе химических реакций;
- Биолюминесценция – возникает в биологических объектах в результате биохимических реакций.

Фотолюминесценция
подразделяется на:

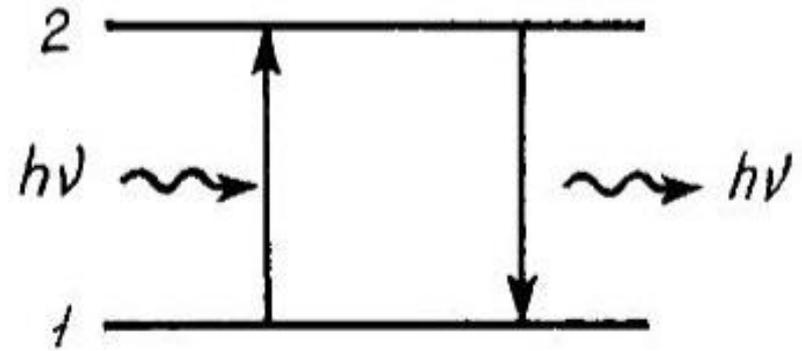
Флуоресценцию –
кратковременное
послесвечение,
длительностью 10^{-9} –
 10^{-1} с.

Фосфоресценцию –
продолжительное
остаточное свечение,
длительностью
дольше 10^{-1} с.

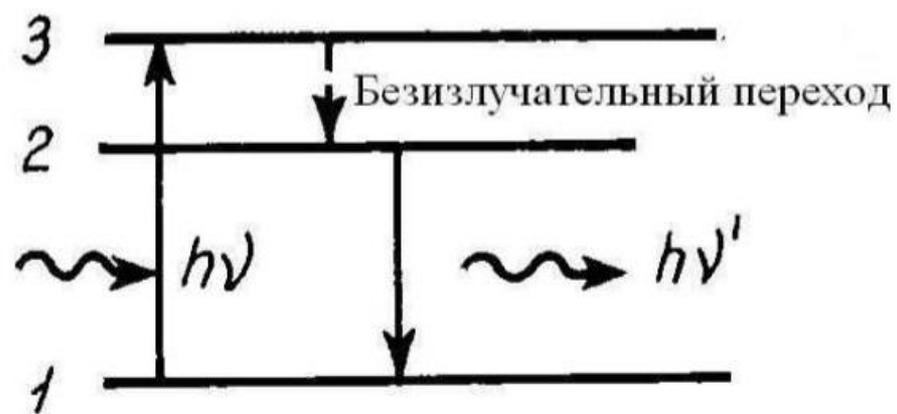


Механизм фотолюминесценции

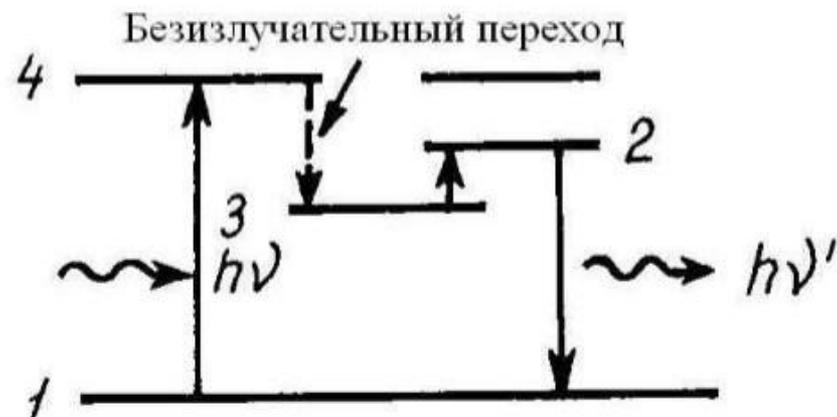
Начальным актом является возбуждение атома или молекулы вещества фотоном с энергией $E=h\nu$. В наиболее простом случае, в одноатомных парах и газах, - атом после возбуждения возвращается в основное, невозбужденное состояние, излучая фотон той же частоты. Это явления называется резонансной флуоресценцией. Она возникает и прекращается сразу после освещения.



Если в этих парах или газах добавить атомы инородных газов (например, H_2 или O_2), тогда $h\nu' < h\nu$, то есть энергия фотонов люминесценции меньше энергии фотонов возбуждения, которые вызывают эту люминесценцию.



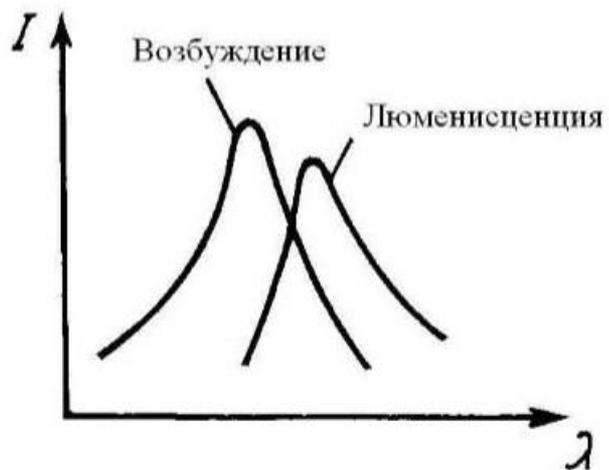
В сложных органических молекулах возникает переход с возбужденного энергетического уровня 4 в некоторое промежуточное метастабильное состояние 3, переход их которого в основное состояние маловероятен. За счет молекулярно-кинетической энергии возможен переход на уровень 2, а с него уже в основное состояние – 1.



Закон Стокса.

Люминесцентные явления подчиняются закону Стокса – спектр люминесценции сдвинут в сторону более длинных волн относительно спектра вызвавшего эту люминесценцию.

Имеются и отклонения от закона Стокса. При возбуждении молекул, находившихся уже в возбужденном состоянии, монохроматическим светом возможна также люминесценция, при которой $h\nu' > h\nu$, $\lambda' < \lambda$.





Для наблюдения
фотолюминесценции применяются
различного вида осветители,
люминоскопы, микроскоп-
спектрофотометры,
предназначенные для
фотометрических исследований
микрообъектов и микроучастков
макрообъектов.

Приборы.

Осветитель люминесцентный
ОИ-18А



Люминоскоп «Филин»



Люминоскоп ЛУЧ-2



Микроскоп-
спектрофотометр МСФУ-К

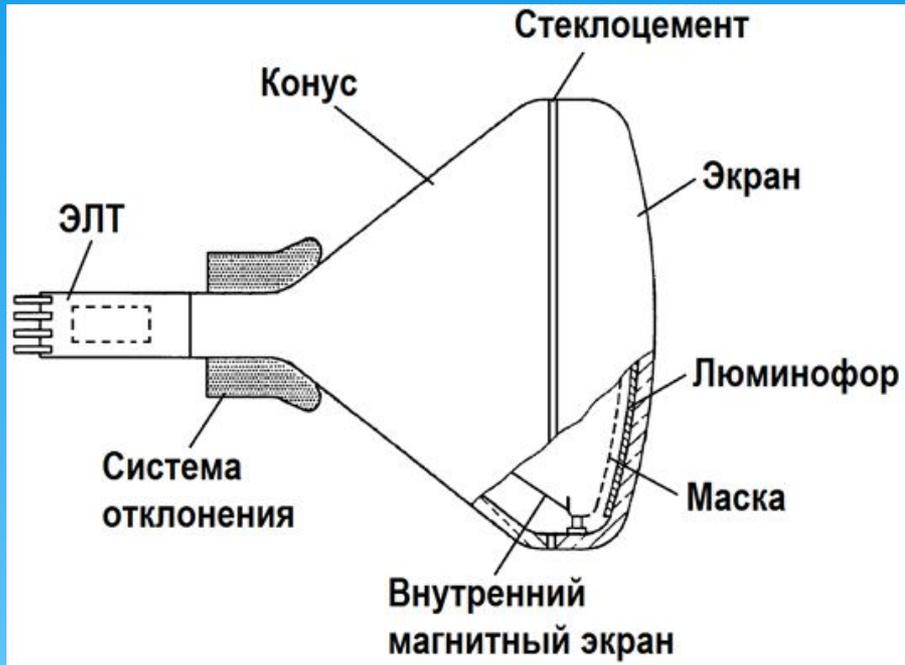


Применение.

Явление люминесценции находит множество применений в современном мире, особенно широко применяется в науке и технике.

В науке люминесценцию используют для обнаружения рентгеновских и ультрафиолетовых лучей с помощью экранов, испускающих видимый свет после поглощения рентгеновских или ультрафиолетовых лучей.





В недалеком прошлом эффект люминесценции находил очень широкое применение в телевизионных трубках, экраны которых покрыты люминесцентным составом, испускающим видимые лучи при бомбардировке его электронами, а также в лампах дневного света. Если экран телевизора покрыт упорядоченно расположенными зернами люминофоров трех сортов, светящихся красным, зеленым и синим светом, то направляя на каждый сорт люминофора свой электронный луч, можно получить на экране цветное изображение, если передача ведется для цветного телевидения.

магнитный экран
внутренний

отклонения



маска



Лампа дневного света представляет собой длинную стеклянную трубку, стенки которой изнутри покрыты люминофором сложного состава. Внутри трубка заполнена инертным газом и парами ртути. При замыкании цепи ток идет через стартер и накаливает электроды лампы, с которых начинают "испаряться" электроны. Атомы ртути, возбужденные ударами электронов, испускают ультрафиолетовые лучи, поглощаемые люминофором, который люминесцирует белым светом.

В фармации явление люминесценции используется для анализа лекарственных веществ и их изменений при порче и длительном хранении. Например, при гидролизе аспирина образуется салициловая кислота, которая в отличие от аспирина, приобретает способность к яркой синей люминесценции.



Судебная медицина - для определения пятен крови на одежде и различных предметах. При специальной обработке пятна крови и освещении ультрафиолетовом светом пятна люминесцируют красным цветом.



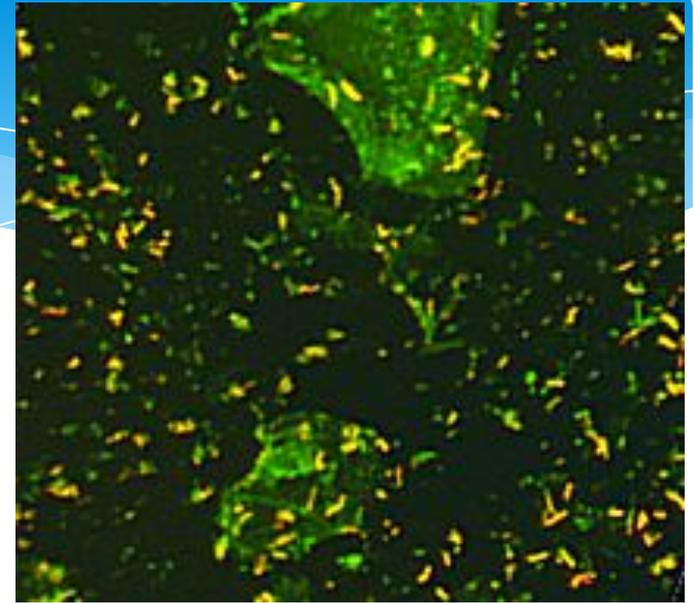
Изучение картин в ультрафиолетовых лучах.

Изучение картин в ультрафиолетовых лучах.

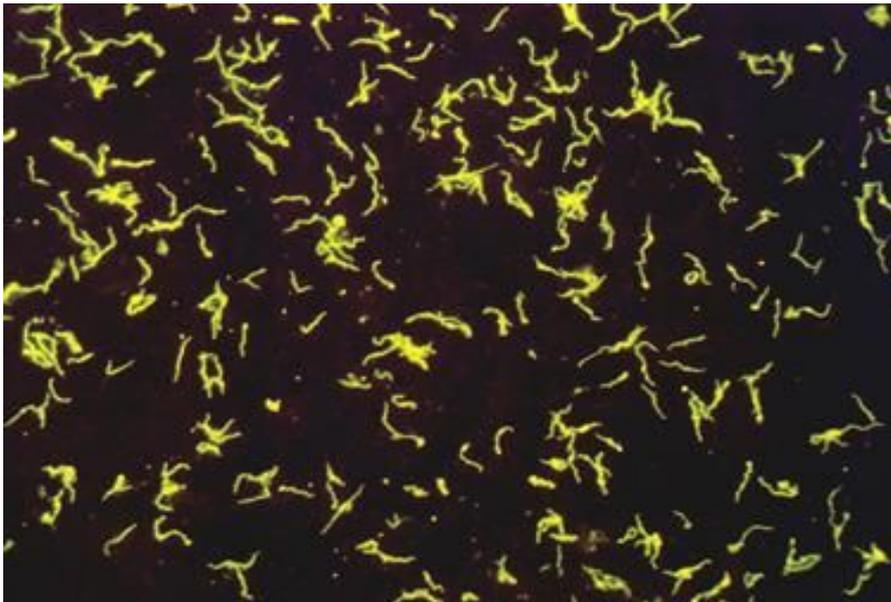


Mycobacterium tuberculosis

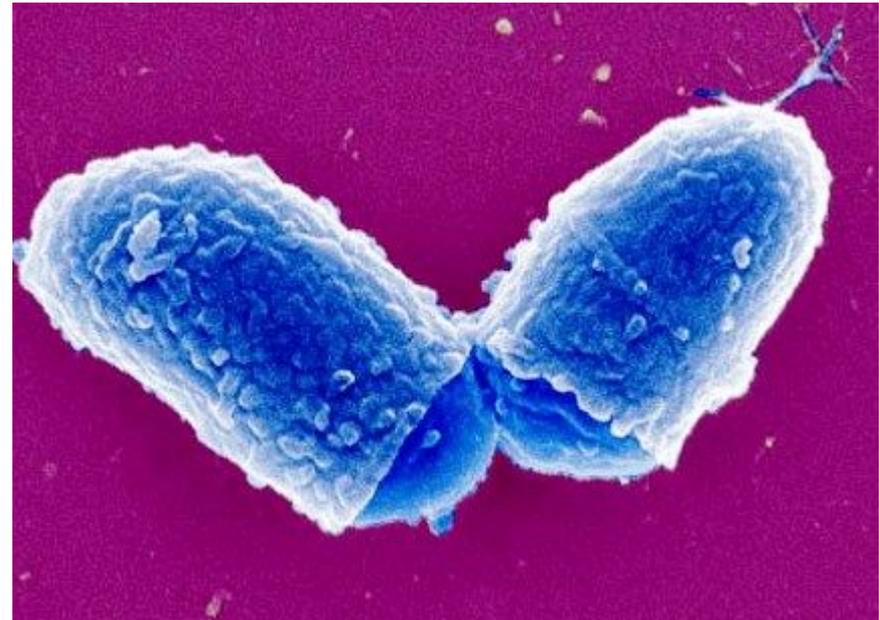
Микробиология - при обработке препаратов люминесцирующими красителями выявляются бактерии туберкулёза, дифтерии и других возбудителей болезней.

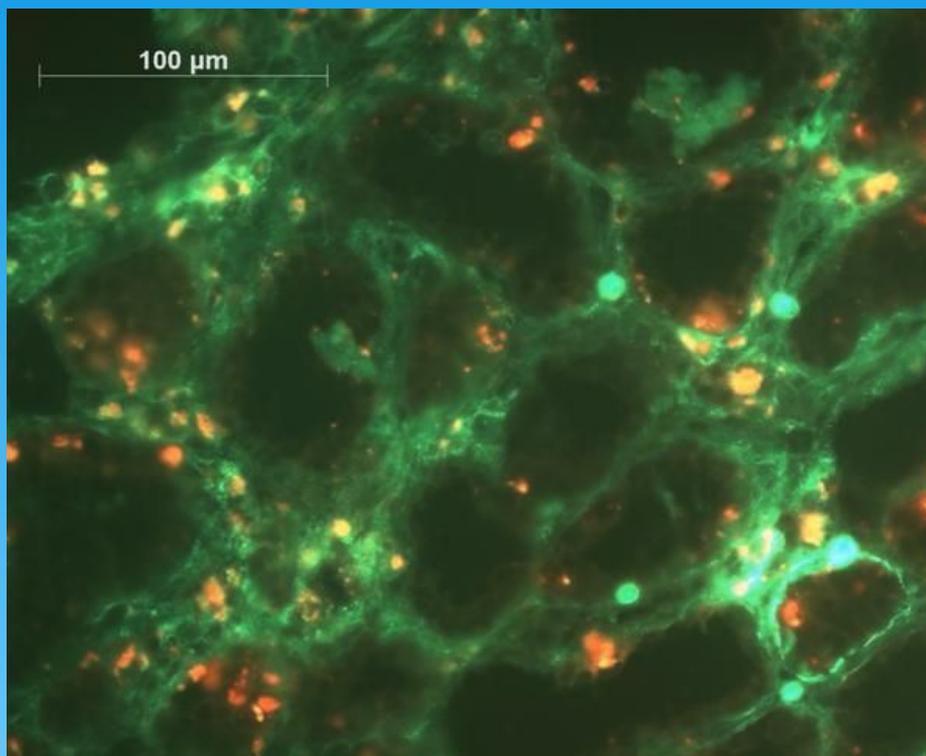


Treponema pallidum



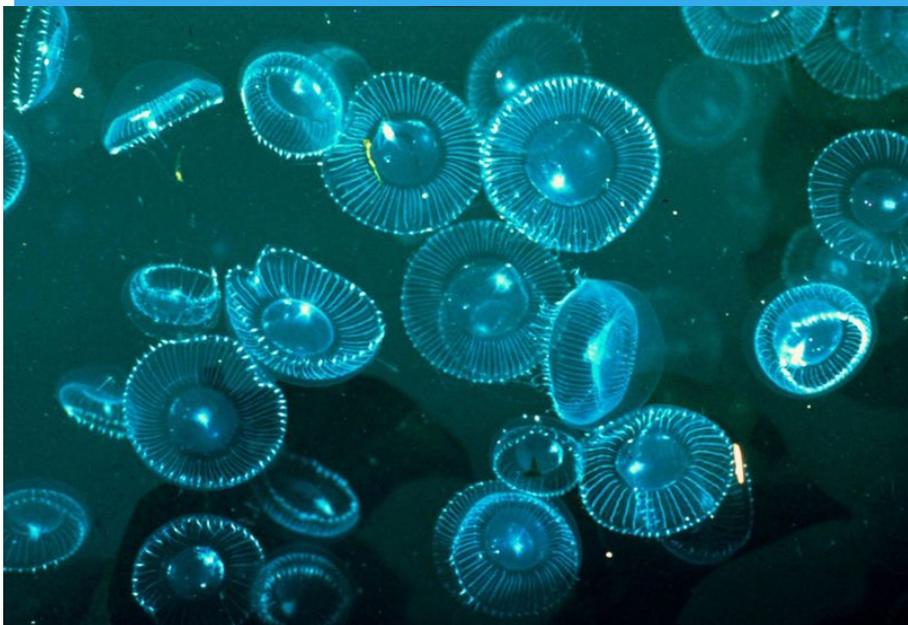
Corynebacterium diphtheriae





Онкология - при
освещении
ультрафиолетовым
светом операционного
поля чётко выявляются
границы
злокачественных
опухолей по различию в
интенсивности и цвете
люминесценции.

Люминесценция в природе.



Люминесценция минералов.

