

Атанаев Т.Б., Шерстнев М.П.

ЛИОЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ

Обсуждаются механизмы и практическое применение лиоллюминесценции. Показано, что лиоллюминесценция может быть использована в качестве простого и информативного метода для оценки воздействия ионизирующего излучения на твердые предметы.

1. Введение

В связи с широким распространением источников ионизирующих излучений увеличилась вероятность радиационных катастроф и аварийного воздействия ионизирующих излучений на живые организмы и продукты питания. Во всех этих случаях появляется проблема реконструкции уровня облучения, который могли получить окружающие объекты, в частности сельскохозяйственные животные, продукты питания и лекарственные препараты.

Однако контроль за последствиями радиационного воздействия в настоящее время затруднен. Пока не существует простых и воспроизводимых методов выявления последствий воздействия ионизирующих излучений на окружающую среду.

В связи с этим представляется актуальной задача разработки и апробации методов оценки воздействия ионизирующего излучения на различные объекты.

Одним из перспективных методов изучения этих объектов является регистрация хемиллюминесценции [Владимиров Ю.А., Шерстнев М.П., 1989] и, в частности лиоллюминесценции (ЛЛ) [Владимиров Ю.А. и соавт., 1996]. Лиоллюминесценция – это свечение при растворении твердых веществ. Свечение при растворении некоторых предварительно облученных веществ впервые было обнаружено в 1959 г. [Ahnström G., Ehrenstein G.V., 1959]. Затем было показано, что и без облучения растворение веществ сопровождается свечением, но очень слабым [Шляпинтох В.Я. и соавт., 1966]. Отличительной особенностью ЛЛ от других видов хемиллюминесценции является обязательное разрушение твердых веществ растворителем.

Было показано, что результаты измерения ЛЛ не зависели от содержания кислорода на момент облучения образца [Матюшков В.В. и соавт., 1978]. Это является достоинством метода, т.к. он позволяет оценивать последствия воздействия ионизирующего излучения при нахождении предмета в атмосфере с различным содержанием кислорода. Поликристаллические образцы глюкозы, ксилозы и рамнозы облучали потоком гамма-излучения изотопа ^{60}Co . В спектре ЛЛ облученных углеводов, независимо от величины

pH растворителя, в качестве которого использовалась вода, регистрировали 5 полос с максимумами при 460, 510, 565, 590 и 620 нм. В полосе излучения с максимумом при 460 нм квантовая эффективность ЛЛ не зависела от поглощенной дозы и составляла примерно 10^6 квант/Грей. Эмиттером ЛЛ в этой полосе, вероятнее всего, является карбонильная группа, либо в состоянии с переносом заряда, либо возмущенная близко расположенной двойной связью. В остальных полосах излучения квантовая эффективность ЛЛ при изменении поглощенной дозы не остается постоянной. Длинноволновые полосы излучения при 590 и 620 нм, по всей видимости, обусловлены излучательными переходами в эксимерах кислорода из различных электронных состояний. Энергетические потери при ЛЛ настолько велики, что в реальных условиях при растворении облученных углеводов в воде, не содержащей хемиллюминесцентного индикатора, энергетическая эффективность детектора ЛЛ примерно равна $3 \cdot 10^{-8}$ %, т.е. почти в 10^6 раз меньше предельного. Достоинством лиоллюминесцентного метода дозиметрии ионизирующих излучений является тканеэквивалентность материала детектора, в качестве которого можно использовать полиоксисоединения, чувствительные к ионизирующим излучениям. Авторы делают вывод, что методика регистрации ЛЛ тканеэквивалентных систем является конкурентоспособной в отношении других методов дозиметрии ионизирующих излучений.

Несколько экспериментов с использованием ЛЛ, проведенных с 50 различными специями и овощами, представленными в свежем, сухом и глубоко замороженном виде, показали, что это направление заслуживает дальнейшего исследования [Bögl W., Heide L., 1983]. Интенсивность ЛЛ пищевых продуктов, подвергнутых воздействию ионизирующей радиации, отличалась от необлученных образцов при сроке после облучения в несколько месяцев и даже несколько лет.

Также было показано, что метод регистрации ЛЛ позволил выявить патологические изменения, происходящие в организме животных, задолго до появления клинических признаков лучевой болезни [Владимиров Ю.А. и соавт., 1996].

Однако, вопрос о возможности использования ЛЛ для диагностики ионизирующего воздействия по твердым объектам, используемым в медицине (лекарства), а также по пищевым продуктам, не исследованным ранее, остается

открытым. В частности, не проводилось сравнение ЛЛ образцов в непосредственный период после облучения и отдаленные результаты измерения ЛЛ.

Поэтому мы провели измерение ЛЛ различных объектов, включая пищевые продукты и лекарство, в ближайшее и отдаленное время после ионизирующего облучения.

2. Материалы и методы

2.1. Объекты

В литературе в качестве объектов для исследования ЛЛ использовали углеводы [Матюшков В.В. и соавт., 1978; 1982]. Например, поликристаллические образцы полиоксисоединений (глюкоза, ксилоза, рамноза) подвергали воздействию гамма-лучей от изотопа ^{60}Co с мощностью дозы 0,5 Гр/с [Матюшков В.В. и соавт., 1978]. Интересные результаты были получены при использовании в качестве объекта ЛЛ шерсти облученных животных [Владимиров Ю.А. и соавт., 1996]. При исследовании ЛЛ шерсти животных через 6 мес после радиационного облучения показано усиление вспышки свечения как при увеличении дозы облучения, так и при увеличении времени между моментом облучения и взятием пробы шерсти.

В качестве объектов ЛЛ изучались корица, кэрри, паприка, порошок сухого молока [Bögl W., Heide L., 1983]. Существует целое направление ЛЛ по изучению грибов.

Нами были использованы пищевые продукты: 30 различных специй и пряностей и высушенных овощей, а также свежие и глубоко замороженные продукты. Например, такие продукты как корица, приправа кэрри (куркума), паприка, порошок сухого молока. Использовали ЛЛ грибов для выявления радиационного воздействия на них (5-8 кГрей).

2.2. Методические особенности

Лиолюминесценцию регистрировали на хемилюминометре с использованием ФЭУ-127 [Шерстнев М.П. и соавт., 1989]. При исследовании ЛЛ образцы растворяли в воде. Для лучшего растворения использовали сульфид натрия (Na_2S).

Для проведения лиолюминесцентного анализа 25 мг шерсти овец или специи, пищевого продукта растирали фарфоровым пестиком в фарфоровой ступке в течение 10 мин [Владимиров Ю.А. и соавт., 1996]. Полученный мелкодисперсный порошок насыпали на дно кварцевой кюветы, которую затем помещали в

темновую камеру хемилюминометра. Измерение проводили без специального перемешивания при $37\pm 0,5$ °С. Через 2 мин инкубации кюветы с объектом в темновой камере по трубочке, не нарушая светоизоляции, вводили в кювету 1 мл насыщенного раствора сернистого натрия (Na_2S), с целью усиления интенсивности свечения использовали люминол. Для приготовления раствора люминола к 10 мл насыщенного раствора Na_2S добавляли 1,5 мл $1,42\times 10^{-4}$ М (2 мг/мл) раствора люминола в диметилсульфоксиде. При добавлении раствора Na_2S с люминолом к порошку шерсти или пищевых продуктов возникала быстрая вспышка ЛЛ, которую оценивали по величине амплитуды.

3. Результаты исследования

Вспышка ЛЛ длилась не более 25-30 с. Было показано, что для ЛЛ кислород необходим только на стадии растворения облученных образцов. Влияние кислорода во время облучения и хранения образца не было обнаружено, что является положительным моментом при использовании его для дозиметрии ионизирующего излучения. Выход ЛЛ зависел от степени дисперсности облучаемого материала. В щелочном растворителе выход ЛЛ в 10 и более раз превышал таковой в нейтральном.

Для последующих обсуждений материала, связанного с ЛЛ, целесообразно дать определение таких понятий как лиофильность и лиофобность. Леофильность – это свойство вещества интенсивно взаимодействовать с граничащим с ним растворителем. Леофобность – это свойство вещества слабо взаимодействовать с окружающим его растворителем. По всей видимости лиофильность не играет существенной роли в развитии ЛЛ, т.к. в общем была зарегистрирована ЛЛ как лиофильных, так и лиофобных веществ.

Усиление интенсивности ЛЛ после облучения наблюдалось не только в шерсти, но и в пищевых продуктах и лекарственном препарате (табл.). Интенсивность вспышки ЛЛ облученных объектов во всех случаях была достоверно ($p < 0,05$) выше, чем в контроле. Следовательно, под действием излучения в изучаемых объектах появляются свободные радикалы, которые выходят в раствор из твердой фазы и при рекомбинации дают вспышку света. Это свидетельствует о том, что ионизирующее излучение активизирует процесс образования свободных радикалов в шерсти, пищевых продуктах и лекарствах.

Таблица 1. Амплитуда вспышки ЛЛ (10^6 квант/с·4л) шерсти овец и пищевых продуктов, взятых на исследование через 7 сут после облучения 600 Р.

Наименование объекта исследования	n	Амплитуда вспышки ЛЛ до облучения	Амплитуда вспышки ЛЛ через 7 сут после облучения	Амплитуда вспышки ЛЛ через 12 мес после облучения
Шерсть овец	14	7,2±0,6	13,3±1,7*	10,2±1,6*
Специи	15	7,3±0,6	12,3±1,5*	9,4±1,5*
Пряности	21	7,5±0,5	13,8±1,4*	11,9±1,2*
Высушенные овощи	12	7,9±0,8	14,2±2,0*	11,3±1,3*
Свежее мясо	7	8,1±0,9	15,0±2,1*	11,7±1,4*
Глубоко замороженное мясо	4	8,4±0,9	16,1±2,3*	12,8±1,7*
Грибы	3	8,4±0,9	27,4±2,9*	13,1±1,8*
Ацетилсалициловая кислота	5	8,5±1,1	23,9±2,4*	17,2±2,1*

* $p < 0,05$ относительно амплитуды вспышки ЛЛ до облучения.

Было обнаружено, что ЛЛ облученных грибов во много раз превышало ЛЛ контрольных образцов. Этот эффект был почти в 2 раза выше, чем при изучении ЛЛ других пищевых продуктов.

Образцы, исследованные нами, могли храниться в течение 12 мес при комнатной температуре и оказывались пригодными для анализа.

4. Обсуждение полученных результатов

Лиоллюминесценция обусловлена расконсервацией дефектов биополимеров, которые появляются особенно после воздействия излучений [Сапежинский 88,216]. Механизм ее заключается в том, что при растворении вещества, предсуществующие в нем свободные радикалы выходят в раствор, где рекомбинируют с образованием эмиттеров в возбужденном состоянии. Переход эмиттеров в основное состояние сопровождается излучением квантов света. Чем больше свободных радикалов находится в твердом веществе, тем выше интенсивность ЛЛ при его растворении.

Оказалось, что при любых значениях рН в спектре ЛЛ выявлялись пять максимумов: 460, 510, 565, 590 и 620 нм [Матюшков В.В. и соавт., 1978; 1982]. При максимуме 460 нм интенсивность ЛЛ зависела от поглощенной дозы и составляла примерно 10^6 квант/Гр. Эмиттером ЛЛ в этой полосе является карбонильная группа ($=C=O$). При других максимумах прямой пропорциональности между дозой излучения и интенсивностью ЛЛ не наблюдалось. При максимумах 590 и 620 нм эмиттерами излучения считаются эксимеры синглетного кислорода (1O_2).

Предельное значение квантовой эффективности ЛЛ $K_n = 2,5 \cdot 10^{11}$ квант/Гр. Энергетические потери при ЛЛ велики, что связано с преобладанием конкурирующих реакций на

стадии образования возбужденных эмиттеров и наличием запрещенных на излучательные переходы в эмиттерах. Энергетические потери можно уменьшить не менее чем в 1000 раз с использованием акцепторов возбуждения (активаторов), что может повысить чувствительность дозиметрии до 0,01 Гр. Используя хемиллюминесцентный метод с чувствительностью не менее 10^3 квант/с можно проводить дозиметрию с тем же нижним пределом измеряемой дозы и в отсутствие активаторов.

Исследованные объекты исследования, являясь твердым субстратом, способны достаточно длительно сохранять информацию о полученной дозе ионизирующего излучения. Некоторые образцы после первичного испытания хранились в течение 12 мес при комнатной температуре и достоверная разница между контрольными объектами и облученными сохранялась. Такой отсроченный эффект объясняется тем, что в процессе ЛЛ происходит расконсервация дефектов биополимеров индуцированных излучениями [Сапежинский И.И., 1988].

Заключение

Таким образом, на базе лиоллюминесценции разработан метод лиоллюминесцентной дозиметрии ионизирующих излучений. Лиоллюминесценцию можно использовать для оценки действия ионизирующих излучений на биологические ткани и лекарства. Измерение ЛЛ твердых объектов позволяет выявлять лучевое воздействие на шерсть, пищевые продукты и лекарственные препараты спустя значительное время (12 мес) после ионизирующего облучения. Этот метод прост и быстр, т.к. результаты получают уже через 10-20 мин.

Литература:

1. Владимиров Ю.А., Шерстнев М.П. Хемиллюминесценция клеток животных. М.: ВИНТИ, 1989, 176с.
2. Владимиров Ю.А., Шерстнев М.П., Грудина Н.В., Пирязев А.П., Козловский Ю.И. Хемиллюминесцентный метод при обследовании животных,

- подвергшихся воздействию ионизирующего излучения.- Бюлл.экспер.биол., 1996, т.121, №1, 39-41.
3. Матюшков В.В., Михальченко Г.А., Юдин И.В., Панасюк С.Л. Люминесценция облученных углеводов и дозиметрия ионизирующих излучений.- В кн.: Хемилюминесцентный метод в биологии и медицине. Киев: Материалы конф., 1978, 40-42.
 4. Матюшков В.В., Юдин И.В., Панасюк С.Л. Исследование механизма хемилюминесценции при растворении облученных углеводов. 2. Образование и люминесценция синглетного кислорода. Хим.высоких энергий, 1982, т.16, №2, 135-138.
 5. Сапежинский И.И. Биополимеры: кинетика радиационных и фотохимических превращений. М.: Наука, 1988, 216с.
 6. Шерстнев М.П., Атанаев Т.Б., Владимиров Ю.А. Система регистрации хемилюминесценции ИФХМВ-1. Мед.техника, 1989, №4, 25-28.
 7. Шляпинтох В.Я., Карпухин О.Н., Постников Л.М., Захаров И.В. Вичутинский А.А., Цепалов В.Ф. Хемилюминесцентные методы исследования медленных химических процессов. М.: Наука, 1966, 300с.
 8. Ahnström G., Ehrenstein G.V. Luminescence of aqueous solutions of substances irradiated with ionizing radiation in the solid state.- Acta chem.Scand., 1959, v.13, 855-860.
 9. Bögl W., Heide L. Die Messung der Chemilumineszenz van Zimt-, Curry-, Paprika- und Milchpulver als Nachweis einer Behandlung mit ionisierenden Strahlen. Neuherberg, 1983, 96S.