

IGRASZKI FOTONÓW

Co roku dzień św. Patryka (17 marca) w Chicago ubarwia zielona fluorescencja rzeki płynącej przez centrum miasta.

Fot. Corbis, Dornedda

Kiedy we wtorek 9 października 1877 roku holenderski przemysłowiec J. H. Ferdinand ten Brink i niemiecki hydrolog Alfred Knop wlewali do szczeliny skalnej na brzegu Dunaju roztwór 10 kg fluoresceiny w rozcieńczonym ługu sodowym, nie zdawali sobie zapewne sprawy, że tym pięknym (także dla oka) eksperymentem inicjują nowy rodzaj dialogu człowieka z przyrodą.

JERZY KARPIUK

CEL DOŚWIADCZENIA był prozaiczny: chodziło o ostateczne potwierdzenie, że górny Dunaj poprzez podziemne rozpadliny i szczeliny skalne łączy się ze źródłami rzeki Aach. Po przepłynięciu ok. 30 km od połączenia potoków Birgach i Breg, które stanowią źródło Dunaju, w okresach suchej pogody i obniżonych opadów, wody tej rzeki zanikają w porowatych skałach wapiennych, a jej koryto całkowicie wysycha i rzeka najwyraźniej przestaje płynąć – chociaż jej źródło wciąż bije. Przesiąkanie Dunaju przez skały na tyle poważnie uszczuplało zasób wód rzeki, że stanowiło poważne zaburzenie dla korzystających z energii wodnej licznych naddunajskich zakładów przemysłowych. Pech i historia chciały, że miejsce głównego przesiąkania, a także domniemane miejsce wypływu tak traconej przez Dunaj wody leżało w Wielkim Księstwie Badenii, natomiast znajdujący się poniżej tego miejsca i jednocześnie najbardziej narażony na straty wody uprzemysłowiony obszar w pobliżu Tuttlingen – w Królestwie Wirtembergii.

Oba państewka prowadziły ze sobą gorący spór: Badenia nie chciała zmieniać naturalnego przesiąkania Dunaju ze względu na przypuszczalne zasilanie przesiąkającą wodą rzeki Aach, natomiast położone nad Dunajem zakłady przemysłowe w Wirtembergii dramatycznie potrzebowały wody jako źródła energii. W nowo zjednoczonych, ale i podbudowanych świeżymi sukcesami w wojnie prusko-francuskiej Niemczech postanowiono spór rozstrzygnąć na drodze prawnej, a do tego był potrzebny dowód. W zleconym przez Ministerstwo Handlu Badenii eksperymencie Brinka i Knopa po ok. 60 godzinach w wodach rzeki Aach wykryto zieloną fluorescencję pochodzącą z rozcieńzonego w stosunku 1:40 000 000 barwnika, czym ostatecznie udowodniono nie tylko połączenie Dunaj–Aach, ale także – ponieważ Aach zasila Jezioro Bodeńskie, z którego wypływa wpadający do Morza Północnego Ren – śródlądowe połączenie między wodami Morza Północnego i Morza Czarnego.

Godna uwagi i polecenia dzisiejszym naukowym decydom była szczodrość sponsorów eksperymentu. Zsyntetyzowana w 1871 roku przez niemieckiego chemika Adolfa von Baeyera fluoresceina była wówczas nowinką naukową i techniczną (pierwszym syntetycznym barwnikiem

Silnie fluoryzujący znacznik uwidacznia przepływy w badaniach różnorodności biologicznej w środowisku wodnym. (Badania prowadzone przez organizację Mission Auracea na wybrzeżu Mozambiku).



fluorescencyjnym!), a niebagatelne koszty jej sprowadzenia od L. Duranda z Bazylei skłoniły Knopa do poczynienia niestandardowej dla publikacji naukowych wzmianki na temat wysokich kosztów eksperymentu. Zresztą, gdybyśmy dziś chcieli użyć barwnika tak nowoczesnego technicznie, jak wówczas fluoresceina (np. używanego do fluorescencyjnego wybarwienia struktur biologicznych Alexa Fluor® 488 w postaci koniugatu z przeciwciałem), koszty eksperymentu sięgnęłyby dziesiątków milionów dolarów. (Chyba, że jego producent, firma Molecular Probes, zaoferowałaby rabat hurtowy). Natomiast fluoresceina i jej proste pochodne potaniały na tyle, że corocznie, od 1962 roku, dzień św. Patryka (17 marca) jest obchodzony w Chicago nad mieniącą się zieleńią rzeką przepływającą przez centrum miasta. Początkowo wodę w kolorze nadziei zapewniało 45 kg uraniny – sodowej pochodnej fluoresceiny, jednak wydany przez amerykańską agencję ds. ochrony środowiska zakaz jej stosowania ze względu na toksyczność dla organizmów wodnych spowodował, że zmieniono tę substancję na barwnik „pochodzenia roślinnego”. Jaki – nie wiadomo, bo nazwa i skład barwnika nie jest ujawniany.

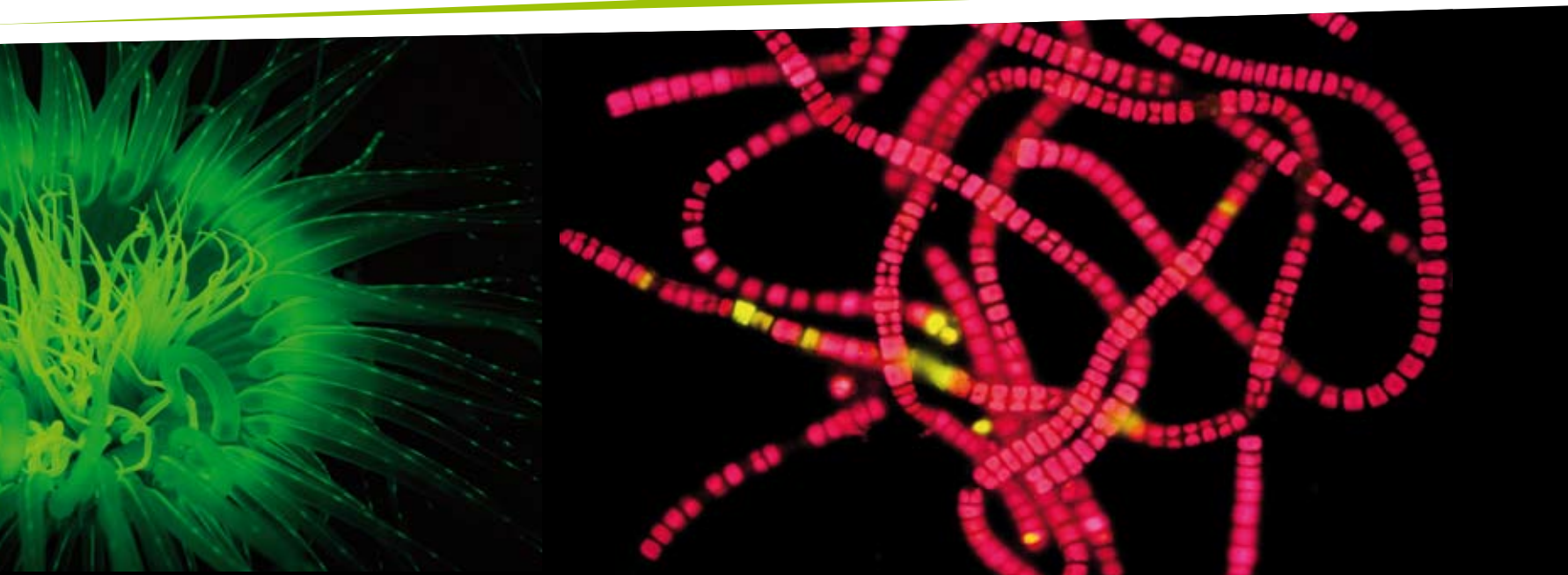
Rosnąca sława fluoresceiny, także w efekcie jej pomysłowego zastosowania jako znacznika w hydrologicznej skali makro, zachęciła urodzonego w Strzelinie na Dolnym Śląsku niemieckiego lekarza i chemika Paula Ehrlicha do wykorzystania w 1881 roku fluorescencji tego barwnika w badaniach fizjologii oka. Zależnie od wieku używanych w doświadczeniu królików, od kilku do kilkunastu minut po dożylnym podaniu zwierzętom roztworu fluoresceiny Ehrlich obserwował zielonkawą fluorescencję pulsującego kanalikule przebiegającego pionowo przez źrenicę, co pozwoliło na zobrazowanie i określenie ścieżki wydzielania cieczy wodnistej w przedniej komorze oka. Tym razem sła biutkie światło z króliczych źrenic dało po raz pierwszy fluorescencyjny

➤ obraz żywego organizmu, zapoczątkowując wybarwienie struktur biologicznych światłem pochodzącym z ich wnętrza. Bez tej techniki nie można sobie wyobrazić rozwoju biologii i medycyny w XX wieku, a współczesna wersja eksperymentu Ehrlicha jest kluczowym elementem angiografii fluoresceinowej – dostępnej dla każdego, popularnej i taniej metody diagnostycznej w chorobach narządu wzroku.

Na tropach matlaliny

Eksperyment na Dunaju nie był jednak pierwszym praktycznym zastosowaniem fluorescencji, a lśniąca zielenią oczy królika nie wprowadziły jej do medycyny, z tego enigmatycznego bowiem, ale budzącego podziw i ciekawość zjawiska korzystano (i to praktycznie!) na długo przed jego nazwaniem obecną nazwą (ramka). O ile – w przeciwieństwie do fosforescencji – samo odkrycie

Fluoryzujący ukwiał *Cerianthus membranaceus*.



w pewnych warunkach) niebieską barwę wyciągów z tego drzewa i w wydany w Sewilli w 1565 roku dziele „Historia medicinal de las cosas que se traen de nuestras Indias Occidentales” (Badania medyczne produktów importowanych z naszych Indii Zachodnich) tak zalecał weryfikowanie ich przydatności medycznej:

Upewnij się, że drewno nadaje wodzie niebieskawą barwę, w przeciwnym razie jest to falsyfikat. Przywoź teraz inny rodzaj drewna, które barwi wodę na żółto, ale ono jest niedobre, tylko ten rodzaj, który barwi na niebiesko, jest autentyczny.

To właśnie tę metodę wykrywania podróbek można uważać za pierwsze udokumentowane zastosowanie zjawiska, które George G. Stokes w 1852 roku nazwał fluorescencją. Wydawałoby się, że taka zdobycz medycyny musi wejść na stałe do skarbnicy ludzkiej wiedzy, a tymczasem stało się inaczej. Pomimo że intrygujące właści-

źródło pozostawało tajemnicą dla europejskich uczonych od XVII do końca XIX wieku i dopiero na początku XX zostało zidentyfikowane jako meksykańskie drzewo o łacińskiej nazwie *Eysenhardtia polystachya*.

Sytuacja po drugiej stronie Atlantyku była zgoła odmienna. Meksykańska medycyna ludowa opiera się w znacznej mierze na dziedzictwie Azteków, a tamtejsi uzdrowicze i mieszkańcy wsi od wieków używają *coatli* w tych samych celach, które opisali Sahagún czy Monardes. Mówienie prozą nie oznacza jednak wiedzy, czym jest proza. Tak też i było w tym przypadku: praźródło fluorescencji wyciągów z *Lignum nephriticum* stanowiło wyzwanie dla kilku generacji dwudziestowiecznych fizykochemików i musiało czekać na swoją identyfikację aż do roku 2009! Okazuje się bowiem, że drewno *Eysenhardtia polystachya* nie zawiera dużych ilości rozpuszczalnych w wodzie barwników, które emitowałyby niebieską fluorescencję. Wręcz przeciwnie, jest ono bardzo bogate (ok. 1% suchej masy) w niefluoryzujące barwniki z grupy chalkonów – nienasyconych ketonów aromatycznych, zwane od nazwy drzewa koatlinami. Paradoks rozwiązali dopiero hiszpańscy chemicy, którzy pod wodzą Ulissesa Akuñi wyizolowali dwie koatliny i wykazali, że w lekko zasadowym środowisku jedna z nich przechodzi w drodze spontanicznego utlenienia w silnie fluoryzujący na niebiesko produkt, nazwany na pamiątkę swojego językowego źródłosłowu matlalina. I tak problem sprzed niemal 450 lat znalazł swoje rozwiązanie. Ta rozciągnięta na stulecia historia dowodzi, że nauka, nawet ta, która wydaje się dobrze pojęta, jest wciąż pełna nierozwiązanych, czekających na wyjaśnienie zagadek. Trzeba tylko wiedzieć, gdzie ich szukać...

Chinina nie tylko na malarię

Kiedy *L. nephriticum* spoczywało w ciemni zapomnienia, na scenę spektakularnych efektów optycznych przebojem weszła inna substancja, która nie tylko przyczyniła się bezpośrednio do powstania nazwy fluorescencja, ale także ma jedną z najbarwniejszych biografii spośród wszystkich znanych związków chemicznych. Co więcej, jest jednym z najważniejszych, jakie poznała ludzkość, ponieważ jest lekiem na malarię – chorobę, która pochłonęła prawdopodobnie więcej ofiar niż wszystkie wojny i zarazy od zarania dziejów.

Chinina, bo o niej tu mowa, jest alkaloidem występującym w korze rosnącego naturalnie w Andach drzewa chinowego. Pomimo olbrzymiego znaczenia medycznego i sprowadzenia kory chinowca do Europy już w latach 30. XVII wieku, chinina przez niemal dwa stulecia stawała opór alchemikom, lekarzom i chemikom: w czystej postaci udało się ją wyodrębnić dopiero w 1820 roku, jej strukturę ustalono w 1908 roku, natomiast przepis na totalną syntezę chininy – czyli kompletną syntezę

Autofluorescencja chlorofilu w komórkach glonów; zdjęcie spod mikroskopu fluorescencyjnego (*Klebsormidium sp.*).

fluorescencji trudno jest lokować w czasie i przestrzeni, o tyle z pewnością można powiedzieć, że początki historii luminescencji molekularnej są ściśle związane z obserwacjami emisji światła z ekstraktów roślinnych, zwłaszcza tych, które wykorzystywano do celów medycznych. Z przekazów osiadłego w XVI wieku w Meksyku franciszkańskiego misjonarza Bernardina de Sahagún wiadomo, że lekarzom Azteków z prekolumbijskiej Ameryki już od dawna znana była niebieska („matlali” w używanym na obszarze Meksyku języku nahuatl; polskie słowa kakao czy czekolada są zapożyczeniami z tego języka) poświata wyciągów z drzewa *coatli*, używanych do leczenia chorób nerek i układu moczowego. Po hiszpańskich podbojach Nowego Świata, drewno z tego drzewa zagościło w XVI-wiecznej Europie pod łacińską nazwą *Lignum nephriticum* jako rzadkie i drogocenne lekarstwo. Opisujący je hiszpański lekarz i botanik Nicolás Monardes zwracał uwagę na (ujawniającą się tylko

wości optyczne wyciągów z *L. nephriticum* były przez ponad dwa stulecia przedmiotem zainteresowania wielu wybitnych uczonych (m.in. Kirchera, Boyle’a, Newtona, Priestleya), nie tylko nie udało się pojąć tajemnicy tego świecenia, ale samo źródło botaniczne substancji je wywołującej popadło w końcu XVIII wieku w zapomnienie! Stokes, który w swoim przeszło 100-stronnicowym raporcie sprawdził fluorescencję wielu ekstraktów roślinnych, soli i minerałów nieorganicznych, ptasich piór, win, a nawet swojej własnej skóry, w ogóle nie wspomina o egzotycznym drewnie używanym do leczenia chorób nerek i pęcherza, które przez wieki było najlepszym znanym źródłem fluoryzujących roztworów! I tylko jego nieobecność (wówczas już wieloletnia) w brytyjskich i europejskich aptekach i drogeriach tamtej doby może tłumaczyć brak tej substancji na liście Stokesa. *L. nephriticum* nie było i nie jest nazwą botaniczną, ale jedynie nazwą leku pochodzenia roślinnego. Jego botaniczne

Fot. Corbis, Domecka

PROBLEMY Z TERMINOLOGIĄ

LUMINESCENCJA wywodzi się z języka łacińskiego (*lumen* – światło). Pojęcie to zostało po raz pierwszy użyte przez niemieckiego fizyka i historyka nauki Eilharda Wiedemanna (1888) do oznaczenia *wszystkich tych zjawisk świetlnych, które nie są uwarunkowane jedynie wzrostem temperatury, w przeciwieństwie do żarzenia się. We współczesnym rozumieniu, luminescencja jest spontaniczną emisją promieniowania przez elektronowo (lub wibracyjnie) wzbudzone indywidua chemiczne, niebędące w równowadze termicznej z otoczeniem.* Różne rodzaje luminescencji klasyfikuje się zależnie od sposobu jej wzbudzenia: fotoluminescencja jest efektem bezpośredniego wzbudzenia poprzez absorpcję fotonu, chemiluminescencja jest wynikiem wzbudzenia na drodze reakcji chemicznej, bioluminescencja – procesów zachodzących w organizmach żywych, elektroluminescencja – przepływu prądu, sonoluminescencja – pobudzenia dźwiękowego, tryboluminescencja – deformacji mechanicznej. Fluorescencja i fosforescencja są formami fotoluminescencji.

FLUORESCENCJA. Zjawisko emisji światła przez wystawione na działanie promieniowania słonecznego ekstrakty roślinne i niektóre minerały było do połowy XIX wieku nazywane *rozproszonym odbiciem albo powierzchniową lub wewnętrzną dyspersją*, ponieważ uważano je za szczególny przypadek odbicia lub rozproszenia światła. Pojęcie „fluorescencja” zawdzięcza swoje narodziny irlandzkiemu matematykowi i fizykowi George’owi Stokesowi (1819–1903), który w 1852 roku utworzył je przez analogię do opalescencji – zjawiska poświaty charakterystycznej dla opalu, ale w sposób charakterystyczny dla innego minerału – fluorytu (fluorek wapnia, CaF₂). Fluoryt zyskał swoją nazwę już w XVI wieku od łacińskiego *fluere* (płynąć) ze względu na zastosowanie jako topnik w metalurgii i dał także później miano fluorowi, wyodrębnionemu jako pierwiastek dopiero w 1886 roku. Tak więc fluor i fluorescencja mają ze sobą tylko tyle wspólnego, że obie te nazwy wywodzą się od fluorytu, jednakże związek każdej z nich z tym minerałem jest zupełnie inny.

FOSFORESCENCJA wywodzi się z języka greckiego: *fws* (światło) i *forein* (nieść); fosfor – przenoszący światło. Nazwą „fosfor” już od średniowiecza określano materiały (przeważnie minerały) świecące w ciemności po ich uprzednim wystawieniu na światło. Najślynniejszym (ale z pewnością nie pierwszym) jest tzw. kamień boloński, odkryty w 1602 roku przez Vincenza Cascariolo, szewca z Bolonii, hobbystycznie zajmującego się alchemią. Był to najprawdopodobniej baryt (siarczan baru), który po wyprażeniu z węglem przekształca się w fosforujący siarczek baru. Później nazwę „fosfor” nadano pierwiastkowi odkrytemu w 1677 roku przez Brandta (pomimo że chemicznie jest on czymś zupełnie innym), ponieważ w kontakcie z powietrzem spala się on, emitując pary jarzące się w ciemności.

