

研究简报

植物叶片的消荧光现象*

李祥生 王应宗 付克德 郇宜贤 张彦鹏

(陕西师范大学物理系, 西安 710062)

摘要 实验观察表明, 非生物体有消荧光现象, 生物体也有消荧光现象. 它是激光与物体表面非线性相互作用的结果. 植物叶片的消荧光现象是一个多光子过程, 并且荧光消失过程伴随二次谐波产生. 荧光消失过程中, 荧光能量部分地转换为二次谐波信号. 经粗略计算, 转换效率大约为 2.2%.

关键词 消荧光现象, 多光子过程, 二次谐波产生, 植物叶片

从 1960 年梅曼发明红宝石激光器以来, 人们对激光的许多特异现象进行了研究. 例如 J. C. Dainty 等人^[1]对激光斑纹 (laser speckle) 这一特异现象的研究, 证明它是激光相干特性的表现. 我们^[2,3]在人体指纹谱以及植物光谱分类研究中, 也观察到一种容易被忽略的特异现象, 即用 1064nm 脉冲激光照射物体表面, 出现消荧光现象 (fluorescence-disappearance phenomenon). 实验观察表明, 非生物体有消荧光现象, 生物体也有消荧光现象. 本文着重讨论植物叶片的消荧光现象.

1 材料和方法

1.1 材料

本实验选择具有代表性的冬青树叶片 (即不太嫩和不太老的叶片) 作为生物样品. 经清洗后进行实验观察和测试.

1.2 仪器与方法

用 DCR-3 型脉冲 Nd:YAG 激光器产生的 1064nm 和 532nm 激光, 如图 1 所示, 经第一反射镜后到达分束镜 ($R_{532} > 99\%$, $T_{1064} = 94\%$). 经分束镜分为两路: 一路为反射的 532nm 激光, 激发触发信号发生器产生触发信号到取样积分器, 控制取样积分器的取样门; 另一路为透射的 1064nm 激光, 经正透镜, 全反镜, 滤色片到生物样品. 分束镜, 全反镜以及滤色片, 保

证了照射激光的纯度. 被照样品所产生的信号进入光栅单色仪, 再经取样积分器到谱图记录仪.

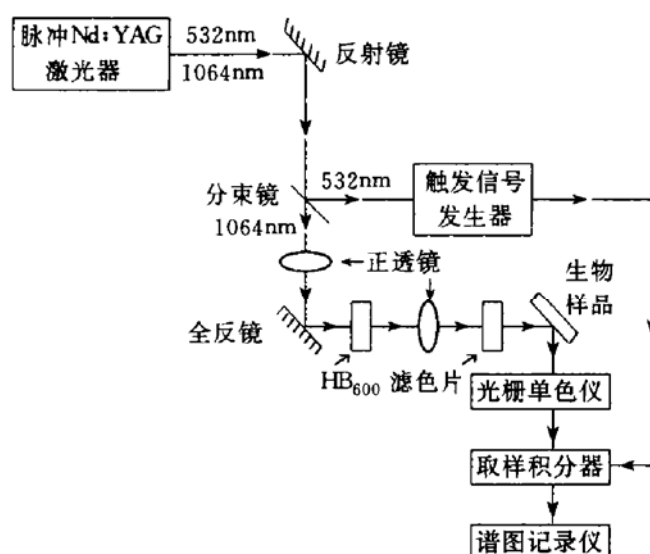


图 1 测试装置示意图

2 实验结果

2.1 消荧光现象的观察

当 1064nm 脉冲激光 (重复频率 10Hz, 线宽小于 1cm^{-1}) 持续照射冬青树叶片表面时, 首先观察到的是轮廓清晰的橙色荧光光斑. 随后

* 陕西省自然科学基金资助项目.

收稿日期: 1994-01-22, 修回日期: 1994-06-24

荧光光斑很快消失,持续时间约1—2s.当激光能量超过一定值(5mJ左右)后,随着荧光光斑消失而出现许多明亮的一闪一闪的绿色光点,其范围与荧光光斑一致.激光能量增大时,绿色光点数目增多,亮度增强.我们将此特异现象称为消荧光现象,或称消荧光效应.实验观察表明,人体、植物以及动物都有消荧光现象,而植物叶片的消荧光现象较为明显.

必须注意,消荧光现象仅仅是在1064nm脉冲激光持续照射下产生的一种特异现象.我们用N₂激光器产生的337.1nm脉冲激光进行实验对照,发现它所产生的荧光光斑没有消荧光现象.这可能是两者产生荧光的机理不同所致.

2.2 光学二次谐波的产生

对冬青树叶表面所产生的明亮绿色光进行光谱测试发现,当入射激光能量超过5mJ后即出现光学二次谐波,其波长为532nm,正好是1064nm脉冲激光在生物体上所引起的二次谐波信号,并且其线宽与1064nm激光一样,非常窄.随入射激光能量的增加,532nm信号迅速增大.而且532nm信号的增长比1064nm信号(反射部分)快(见图2).

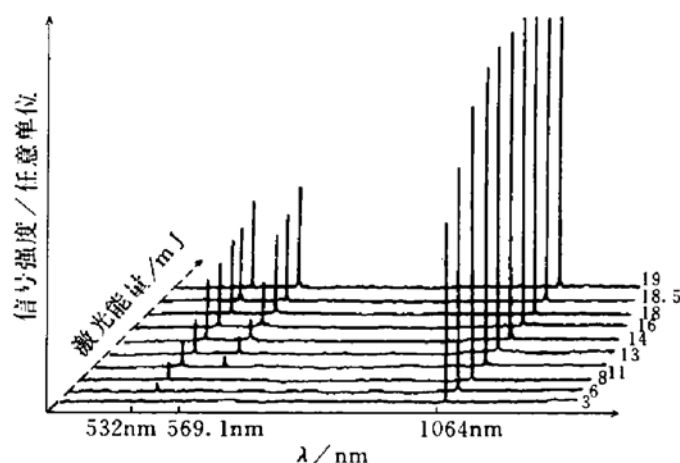


图2 三种信号强度随入射激光能量的变化

当入射激光能量大约超过9mJ时,又出现一个新的信号(569.1nm),它随入射激光能量的增加比532nm信号增长还快,大约在17mJ之后,569.1nm信号超过了532nm信号,如图

3所示.

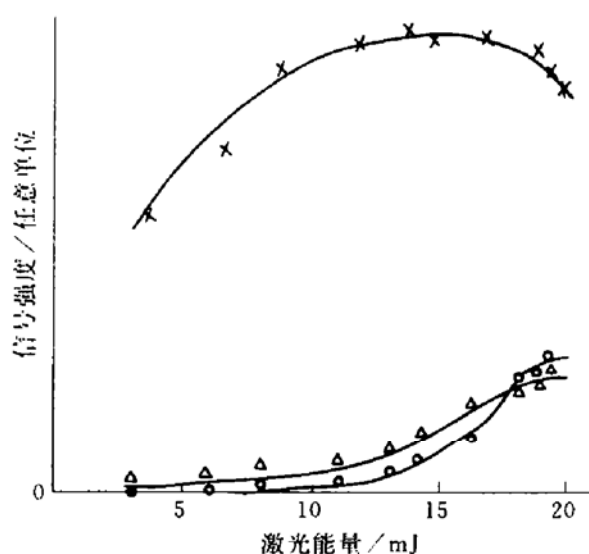


图3 三种信号的变化规律

×—×, 1064nm 信号; △—△, 532nm 信号;
○—○, 569.1nm 信号.

2.3 1064nm 信号出现极值

1064nm 信号是生物样品表面的反射部分.由图3可见,当入射激光能量逐渐增加时,开始1064nm信号增长较快,然后下降,极值大约在15mJ处.我们认为1064nm信号下降,是因为有更多的入射激光能量被生物样品表面吸收而转换为532nm信号所致,使得生物样品表面的反射部分减少.人体皮肤的反射率为5%—7%,若以5%估计,经粗略计算,转换效率大约为2.2%^[4].

3 讨 论

3.1 消荧光现象是一个多光子过程

用于照射生物样品的1064nm激光,其光子能量很小, $E = h\nu_0 = 6.626 \times 10^{-34} \text{Js} \times 2.8 \times 10^{14} \text{s}^{-1} = 1.855 \times 10^{-19} \text{J} = 1.158 \text{eV}$.单光子过程不可能激发生物样品产生比其波长短的橙色荧光光斑.所以,1064nm脉冲激光照射生物样品只能由多光子激发过程产生荧光.又由于所产生的橙色荧光比较接近1064nm,而且荧光成分又没有波长短于532nm的信号,因此可以认为,1064nm激光照射生物样品时,只能是一个双光子过程,而不会出现三光子以上的

过程. 当激光深入生物细胞时, 由于细胞的大小为微米数量级, 会产生多光子吸收、光学二次谐波效应等非线性效应^[5], 所以我们认为, 消荧光现象是一个多光子过程, 即双光子过程.

3.2 荧光消失过程伴随二次谐波产生过程

对植物叶片的研究表明, 在生物体的消荧光现象中, 荧光消失过程伴随二次谐波产生. 消荧光现象是激光与生物体表面非线性相互作用的结果. 在消荧光现象中, 多光子过程和二次谐波产生是最重要的过程. 由于激光生物效应^[6], 在荧光消失过程中, 荧光能量部分地向二次谐波转换. 也就是说, 原来产生荧光光斑的 1064nm 激光能量部分地转换为产生二次谐波信号.

3.3 消荧光过程涉及单态向多重态的跃迁过程

当入射激光能量增加时, 激光与生物分子相互作用, 由于激光的生物热效应, 生物分子的基态能级发生分裂, 从而出现附加的热助能级^[7] E_{02} , 如图 4 所示. 此时, 单态 (激发态 E_1) 向双重态 (基态 E_{01} 和 E_{02}) 的跃迁, 产生

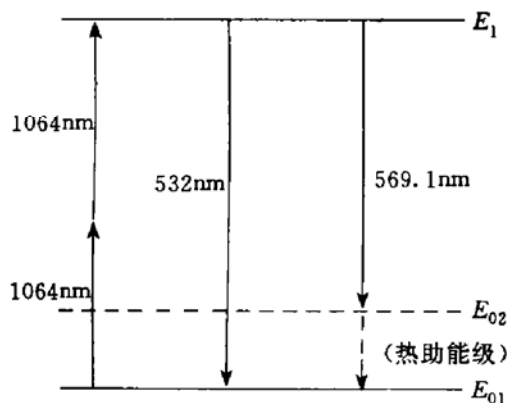


图 4 能级跃迁简图

532nm 和 569.1nm 两个信号. 这两条谱线的光子能量分别为: $2 \times h\nu_0$ (双光子激励), $2 \times h\nu_0 - \Delta E$ (双光子激励-热激励), 其中 ν_0 为 1064nm 激光的频率. 当入射激光能量较小时, $E_1 \rightarrow E_{01}$ 的跃迁几率大于 $E_1 \rightarrow E_{02}$ 的跃迁几率, 所以 532nm 信号的增长大于 569.1nm 信号. 当激光能量达到 17mJ 时, 两种跃迁的几率相同, 所以两个信号的强度相同. 当激光能量更大时, 由于

$E_{02} \rightarrow E_{01}$ 无辐射跃迁增大, 使得 569.1nm 信号超过 532nm 信号, 但两者仍随激光能量增大.

以上所述可概括为: 消荧光现象是激光与物质非线性相互作用的结果, 是一个多光子过程, 而且荧光消失过程伴随二次谐波产生. 这就是消荧光现象的简单物理模型.

参 考 文 献

- 1 Svelto O. Principles of lasers. New York; Plenum Press, 1982: 285—289
- 2 李祥生, 王应宗, 李永放等. 应用激光, 1992; 12 (3): 117
- 3 李祥生, 李永放, 王应宗等. 激光杂志, 1992; 13 (6): 310
- 4 李祥生, 付克德, 王应宗等. 激光杂志, 1994; 15 (5): 213
- 5 李祥生, 王应宗, 李永放等. 光谱学与光谱分析, 1993; 13 (3): 109
- 6 虞启琰, 王琳, 高锡荣等编. 医用激光仪器, 天津: 科学出版社, 1986: 121
- 7 蔡德主编. 光谱分析辞典. 北京: 冶金工业部钢铁研究总院, 1987: 120—121

Fluorescence-Disappearance Phenomenon on Leaflet of Plant. Li Xiangsheng, Wang Yingzong, Fu Kede, Huan Yixian, Zhang Yanpeng (Department of Physics, Shanxi Normal University, Xian 710062, China).

Abstract Many experimental observations show that the fluorescence-disappearance phenomenon happens at somatic body, biobody, and other materials. This phenomenon is due to the nonlinear interaction between their surface and the laser. Experimental study on the leaflet of plant shows that fluorescence-disappearance phenomenon is a multiphoton process, and is accompanied with second harmonic generation. During fluorescence-disappearance process, the fluorescence energy is transferred into second harmonic signal partially, after roughly counted, the transfer coefficient is about 2.2%.

Key words fluorescence-disappearance phenomenon, multiphoton process, second harmonic generation, leaflet of plant