

# 血卟啉和核黄素荧光寿命的测量

立 群 王文耀 高福源 施阿英 邱佩华

(中国科学院上海光学精密机械研究所, 上海 201800)

江寿平 连少辉

(中国科学院上海生物化学研究所, 上海 200031)

## 提 要

本文选用了波长为  $1.054 \mu\text{m}$  的磷酸盐钕玻璃锁模激光器输出的单个 PS 激光脉冲, 经 KDP 晶体倍频后的绿光 ( $\lambda=0.527 \mu\text{m}$ ) 做激发光源。用条纹相机测定了血卟啉、核黄素有机生物大分子的激发单态  $S_1$  的寿命。并就氧分子的猝灭效应对寿命的影响进行了初步讨论。

关键词: 血卟啉, 核黄素, 荧光寿命, 条纹相机。

## 一、原 理

在光生物学中, 只有当光子被生物系统吸收后, 才产生化学的和随之而来的生物效应。吸收的光子使分子或分子的一部分(发色团)上的价电子上升到激发态。同时被激发的分子可以损失能量而返回基态。这一过程, 用简化的两能级模型<sup>[2]</sup>(如图 2 所示)来研究生物分子从基态  $S_0$  激发到  $S_1$  态的振动能级上后再发射荧光的动力学过程, 着重研究荧光寿命  $\tau_0$ 。

在强激光作用下, 系统的动力学过程可用速率方程描述:

$$\left. \begin{aligned} \frac{dn_1}{dt} &= -w_{12}(n_1 - n_2) + n_2(A_r + A_n), \\ \frac{dn_2}{dt} &= w_{12}(n_1 - n_2) - n_2(A_r + A_n), \\ n_1 + n_2 &= n_0, \\ n_1 - n_2 &= \Delta n. \end{aligned} \right\} \quad (1)$$

其中  $w_{12}$  为从  $S_0$  态到  $S_1$  态的受激跃迁几率,  $A_r$  和  $A_n$  分别为能级 2 的自发辐射跃迁几率和无辐射跃迁几率,  $n_0$  为单位体积内总粒子数,  $n_1, n_2$  和  $\Delta n$  分别表示能级 1、能级 2 的粒子数密度和它们之间的差。令  $A = A_r + A_n = \tau_0^{-1}$ ,  $\tau_0$  为能级的荧光寿命。

我们利用的激发脉冲宽度为  $\tau_p = 5\text{ps}$ , 由于  $\tau_p \ll \tau_0$ , 所以在激发脉冲过后可以令  $w_{12} = 0$ 。于是解速率方程可以获得:

$$n_2 = e^{-\frac{t}{\tau_0}}, \quad (2)$$

由于荧光强度  $I$  正比于能级 2 上的粒子数密度  $n_2$ 。从而获得:

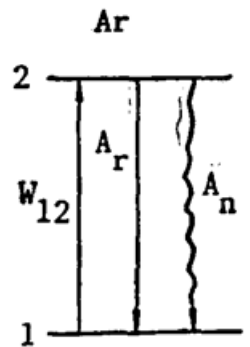


Fig. 1 Simplified model of two levels

$$I \sim e^{-t/\tau_a} \quad (3)$$

从(3)式中看出,当  $t = \tau_a$  时,荧光强度  $I$  降到峰值的  $\frac{1}{e}$ , 此时的  $t$  值即为荧光寿命  $\tau_a$ 。

## 二、实 验

实验用的样品: 血卟啉、核黄素, 是中国科学院上海生物化学研究所提供。

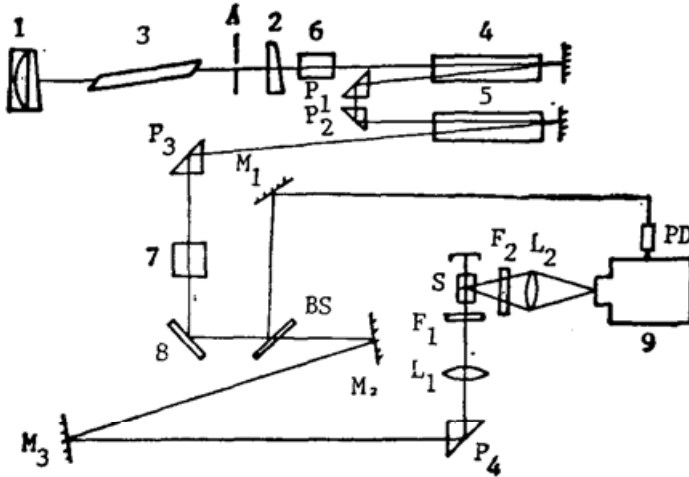


Fig. 2 Experimental set-up for measuring lifetime of the excited state of the biological molecules

$\Delta$ —pinhole;  $P$ —prism;  $M$ —mirror with total reflectivity;  $BS$ —beamsplitter;  $L$ —lens;  $F$ —filterset;  $PD$ —photodetector;  $S$ —sample; 1—dye cell and mirror with the total reflectivity; 2—output mirror of the oscillator; 3— $\text{Ng}^{3+}$ -glass rot; 4, 5—amplifier; 6—single pulse selector; 7—frequency doubling crystal KDP; 8—mirror with the total reflectivity for wavelength  $0.53 \mu\text{m}$  by the incident angle  $45^\circ$ , but for wavelength  $1.06 \mu\text{m}$  reflectivity is zero; 9—streak camera

实验装置: 如图 3 所示。光源为五甲川染料锁模的磷酸盐钕玻璃激光系统<sup>[5]</sup>输出的基波( $\lambda = 1.054 \mu\text{m}$ )光脉冲系列, 经单脉冲选择器, 从脉冲系列包迹的前沿上选出一个单脉冲。这一单脉冲经两级双程放大器放大后, 产生十千瓦的功率, 脉冲宽度为 7 ps。输出的单脉冲激光束经 KDP 晶体倍频后的绿光( $\lambda = 0.527 \mu\text{m}$ ), 通过  $45^\circ$  双色片( $1.054 \mu\text{m}$  全透,  $0.527 \mu\text{m}$  全反)和光分束器  $BS$ , 将光分成两束。一束光经全反镜  $M_1$ , 由快响应光电二极管  $PD$  接收, 作条纹相机的触发信号源。另一束光经全反镜  $M_2$ 、 $M_3$  和棱镜  $P_4$  以及透镜  $L_1$  ( $f = 1500 \text{ mm}$ ), 把光束会聚到样品盒上。样品盒是  $\text{K}_8$  玻璃制成四面透光, 其单位面积上的光强, 可通过调节透镜  $L_1$  来实现。滤光片组  $F_1$ , 滤去残留的基波光 and 波长比  $1.054 \mu\text{m}$  长的杂散光, 只让绿

光通过。样品盒中被感生的荧光经中性滤光片组  $F_2$  后, 由条纹相机接收记录。

## 三、实验结果与讨论

表 1 列出了两种样品的生物分子从基态  $S_0$  激发到  $S_1$  态的振动能级上后所发荧光的寿

Table 1

Sample	solvent	concentration of solution (M)	fluorescence lifetime $\tau_a$ (ns)	fluorescence lifetime without oxygen in the solution $\tau_a$ (ns)
haematoporphyrin	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	$10^{-5}$	1.97	6
lactoflavin	$\text{CH}_3\text{OH}$	$10^{-5}$	0.7	5

命。

图4(a)和(b)给出了用条纹相机拍摄的血卟啉(HPD)和核黄素( $B_2$ )的荧光指数衰减曲线。

从图4中得出血卟啉和核黄素的荧光寿命分别为 $\tau_a(\text{HPD})=1.97\text{ ns}$ 和 $\tau_a(B_2)=0.7\text{ ns}$ 。实验中发现,血卟啉和核黄素的样品溶液中含有氧气时,氧分子可使样品的激发态寿命发生猝灭,即寿命变短。在溶液中通氮气便可以排除溶液中的氧气。用同样的方法测得血卟啉和核黄素的荧光寿命分别为 $\tau_a(\text{HPD})=6\text{ ns}$ 和 $\tau_a(B_2)=5\text{ ns}$ 。同样,样品溶液的浓度对激发态寿命也有影响,这叫做浓度的猝灭效应。这方面的工作有待于做更深入细致地研究。

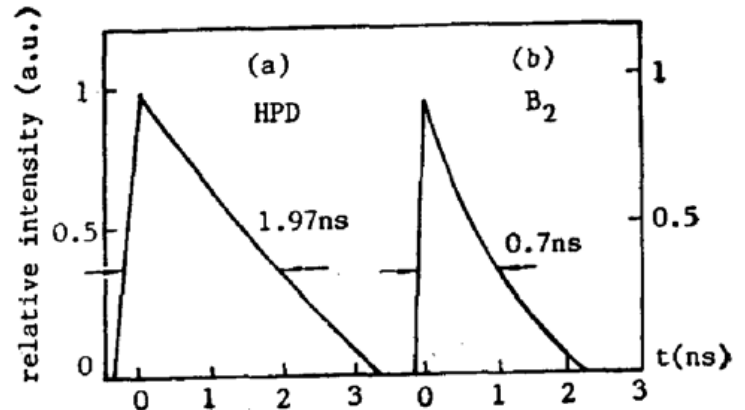


Fig. 3 Decay curve of the fluorescence obtained from the streak camera.

(a) fluorescence decay curve of the haematopo rhyrin;  
(b) fluorescence decay curve of the lactoflavin

参加本实验研究工作的还有原南京工学院毕业实习生, 现是上海激光所研究生陆雪标同志。作者对陆雪标同志在实验中的有益帮助表示感谢。

### 参 考 文 献

- [1] 邱佩华, 陈述春;《中国激光》, 1983, 10, No. 3 (Mar), 143~146.  
[2] W. Seka, J. Bunkenburg; *J. A. P.*, 1978, 49 No. 4 (Apr), 2277~2281.

## Fluorescence lifetime measurement of haematoporphyrinand lactoflavin

LI QUN, WANG WENYAO, GAO FUYUAN, SHI AYING AND QIU PEIHUA  
(*Shanghai Institute of Optics & Fine Mechanics, Academia Sinica, Shanghai 201800*)

JIANG SHOUPING AND LIAN SHAOHUI  
(*Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica, Shanghai 200031*)

(Received 11 May 1990; revised 4 September 1990)

### Abstract

In our experiment described in this paper, the single pulse of the picosecond laser ( $\lambda = 0.527 \mu\text{m}$ ) from the output of a frequency-doubled mode-locked phosphate Nd glass laser at  $\lambda = 1.054 \mu\text{m}$  was used as the exciting light source. The lifetimes of the excited singlet states S1 of the organic biological macromolecules haematoporphyrin and lactoflavin were measured with streak camera. The quenching effect of oxygen molecules on the lifetimes was discussed preliminarily.

**Key words:** haematoporphyrin, lactoflavin, fluorescence lifetime, streak camera.