

Эксплексные лампы как новый инструмент флуоресцентной спектроскопии

Г.М. Креков¹, А.А. Лисенко¹, Г.Г. Матвиенко¹, Э.А. Соснин^{2*}

¹Институт оптики атмосферы им. В.Е. Зуева СО РАН
634021, г. Томск, пл. Академика Зуева, 1

²Институт сильноточной электроники СО РАН
634055, г. Томск, пр. Академический, 2/3

Поступила в редакцию 31.03.2009 г.

Приводятся результаты натурного и численного экспериментов, связанных с изучением пространственного градиента флуоресценции хлорофилла в объеме растительного листа. Впервые показано, что эффективным источником, индуцирующим процесс спонтанной флуоресценции фотосистемы листа, может служить континуум УФ-излучения эксплексных ламп. Расчетные оценки, выполненные методом Монте-Карло, подтверждают, что основной причиной трансформации спектра эмиссии индуцируемой флуоресценции при прохождении объема листа являются процессы реабсорбции.

Ключевые слова: флуоресцентная спектроскопия, эксплексные лампы, метод Монте-Карло, перенос радиации.

Введение

В настоящее время в качестве одного из методов, обеспечивающих оперативную информацию о нарушениях нормального функционирования экосистемы, является дистанционное лазерное зондирование. Традиционная техника лазерного зондирования основана на интерпретации пространственно-разрешенного сигнала упругого рассеяния исследуемой среды на одной или нескольких частотах оптического диапазона длин волн.

В последнее десятилетие определилась закономерная тенденция использования широкого спектра линейных и нелинейных процессов, приводящих к переизлучению материалом зондируемой среды на других частотах, так называемых трансспектральных процессов [1]. Среди них, с точки зрения информативности, наиболее значимым является лазерно-индуцируемая флуоресценция (ЛИФ) [2, 3], которая как оптическое явление дает основу для создания эффективных средств дистанционного обнаружения и идентификации широкого класса молекулярных соединений, в том числе опасных для окружающей среды.

Наиболее плодотворной областью приложения флуоресцентных лидаров является мониторинг растительного покрова планеты, который содержит широкий комплекс активных флуорофоров, реагирующих на процессы метаболизма и внешних условий развития [3].

Не уменьшая значимости лазеров как эффективного инструмента дистанционного возбуждения ЛИФ, следует обратить внимание специалистов на появление нового поколения источников континуального некогерентного УФ-излучения — эксплексных ламп [4, 5], спектр излучения которых охватывает диапазон возбуждения спонтанной флуоресценции большинства известных растительных флуорофоров, полиароматических углеводородов и органического аэрозоля, включая споры бактерий.

Эксплампы — источники спонтанного УФ-излучения, в которых используется неравновесное излучение эксимерных или эксплексных молекул инертных газов или их смесей с галогенами. Особенности этих молекул являются их устойчивость в возбужденном состоянии и отсутствие прочной связи в основном, а также характер релаксации энергии по электронным состояниям эксимерных или эксплексных молекул, образуемых в среде в процессе ее возбуждения, и относительно большая энергия фотона, излучаемого при переходе молекулы в основное состояние.

Наличие ионизованных и возбужденных состояний, связанных между собой многочисленными пересечениями кривых потенциальной энергии, приводит к тому, что в процессе релаксации среды последовательно безызлучательно заселяются состояния с верхних возбужденных к нижним состояниям. Этим объясняются, во-первых, высокая эффективность преобразования вводимой в среду энергии излучения, во-вторых, наличие в эмиссионном спектре лишь указанной группы переходов, относящихся к УФ- или ВУФ-диапазонам. Кроме того, при возбуждении многокомпонентных газовых смесей одновременно можно получить излучение с соизмеримой интенсивностью на двух и более молекулах.

* Георгий Михайлович Креков (gm@iao.ru); Андрей Александрович Лисенко; Геннадий Григорьевич Матвиенко (magg@iao.ru); Эдуард Анатольевич Соснин (badik@loi.hcei.tsc.ru).

Из существующих типов самостоятельного разряда, используемых для возбуждения рабочих смесей эксиплексных ламп, следует выделить, прежде всего, емкостной, барьерный и объемный разряды высокого давления с УФ-предыонизацией, нормальный и поднормальный тлеющие разряды низкого давления. Наиболее энергетически эффективным и получившим наиболее широкое применение в плане создания коммерческих эксиплексных источников являются емкостной и барьерный безэлектродные разряды. При этих типах разряда рабочая смесь находится в замкнутой кварцевой полости. Плазма разряда не контактирует с электродами, что обеспечивает большой ресурс смеси.

Детальный анализ механизмов возбуждения и генерации эксиплексных ламп выполнен в серии работ, систематизированных в обзорах [4, 5]. Основное отличие эксиплексных ламп от традиционных люминесцентных, а также тепловых источников спонтанного излучения УФ-диапазона состоит в том, что до 80% и более общей мощности излучения может быть сосредоточено в относительно узкой (10–50 нм на полувысоте в зависимости от условий разряда) локализованной полосе соответствующей молекулы.

Другими достоинствами эксиплексных ламп с точки зрения их применения являются большая энергия фотона (3,5–10 эВ), гладкая аппаратная функция спектра, относительно высокая удельная мощность излучения, возможность масштабирования и выбора произвольной геометрии излучающей поверхности. Эти качества непрерывного излучения эксиплексных ламп уже используются в ряде новых технологий, связанных с обработкой полимерных покрытий, фотодимеризацией, осушением углеводородных смесей и др. [5, 6]. В работах [7–9] на основании имитационного моделирования показано, что достаточно широкая полоса спектрального излучения импульсных эксиплексных ламп на основе молекул XeCl^* , XeBr^* и KrCl^* хорошо удовлетворяет требованиям дифференциальной оптической абсорбционной спектроскопии (ДОАС-технология). Это дает основание рассматривать их в качестве перспективных источников лидарных систем дистанционного газоанализа. Результаты численных экспериментов [7, 9] показали, в частности, возможность зондирования вертикальной концентрации диоксида серы, имеющего заметную полосу поглощения в районе 300 нм, до высот 7–9 км, если использовать в качестве ретроотражателя атмосферный аэрозоль.

В данном сообщении демонстрируется возможность использования XeCl -эксиплексных ламп для возбуждения спонтанной флуоресценции хлорофилла растительного листа *in vivo* в лабораторных условиях. Блок-схема лабораторного макета приведена на рис. 1.

Коллимированное излучение XeCl -эксиплексной лампы, имеющее спектральный максимум в области 300 нм (более подробно характеристики эксиплексных ламп изложены в [5, 7]), направлялось на образец листа перпендикулярно к адаксиальной поверхности. В качестве образца взят свежий лист *Urtica dioica* (крапива обыкновенная), имеющий геометрическую толщину около 300 мкм, что типично для двудольной (*di-*

cotylidon) растительности. Слабая полоса излучения XeCl -эксиплексной лампы в видимой части спектра отсекается с помощью светофильтра УФС-2. Спектр индуцируемой флуоресценции регистрируется в схеме как диффузного отражения, так и диффузного пропускания.

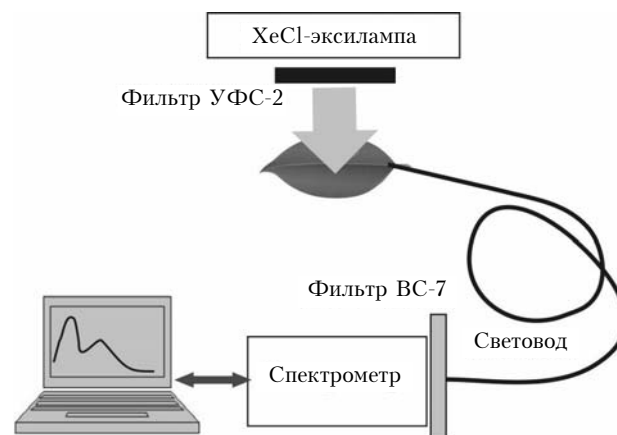


Рис. 1. Блок-схема лабораторного макета

Система регистрации спектров флуоресценции состоит из светофильтра ВС-7, отсекающего свет источника, и спектрометра StellarNet IPP2000, работающего в спектральном диапазоне 300–1000 нм и имеющего разрешение 0,5 нм. Измеренные сигналы передаются на компьютер, где производится их дальнейшая обработка. В частности, на основании предложенного ранее алгоритма метода искусственных нейронных сетей [10] подтверждено, что полученные спектры флуоресцентной эмиссии обязаны своим происхождением молекулярным комплексам хлорофилла *a* и *b*. Один, наиболее характерный, пример измеренных спектров флуоресценции хлорофилла, индуцируемых излучением XeCl -эксиплексной лампы, показан на рис. 2.

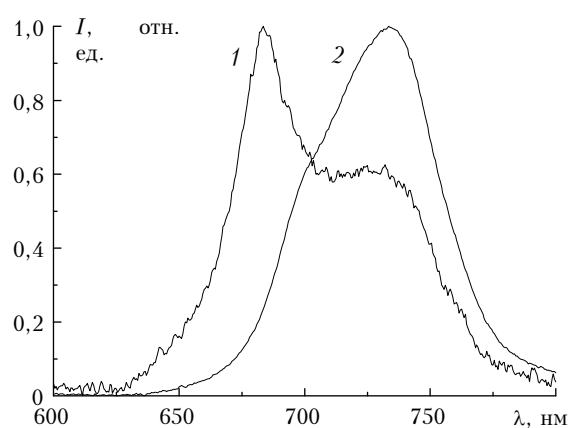


Рис. 2. Спектр флуоресценции хлорофилла, индуцируемый излучением XeCl -эксиплексной лампы: кривая 1 – для интенсивности диффузно отраженной эмиссии $I(\lambda)$; 2 – для интенсивности диффузно пропущенной эмиссии $I(\lambda)$

Обращают на себя внимание некоторые качественные особенности полученных результатов: во-первых, существенно более высокая спектральная

интенсивность характерных полос флуоресценции хлорофилла по сравнению с известными данными экспериментальных измерений, полученных с помощью N_2 -лазера [11] и УФ флуоресцентной лампы (модель ХХ-15А, Spectroline) [12]; во-вторых, заметная трансформация формы спектра флуоресценции при прохождении объема листа: превращение двухмодальной конфигурации в унимодальную.

В первом случае очевидно повышенная способность континуального УФ-излучения индуцировать спонтанную флуоресценцию по сравнению с монохроматическим излучением, однако теоретической модели подобного эффекта мы не обнаружили. Что касается качественной трансформации спектра, то можно предположить, что ее причиной являются процессы реабсорбции, неизбежно возникающие в паренхиме листа за счет взаимного перекрытия полосы флуоресцентной эмиссии хлорофилла *b* и полосы поглощения хлорофилла *a* [13]. Для проверки этого предположения выполнены численные оценки возможных вариаций спектра индуцируемой флуоресценции в объеме листа как оптически плотной дисперсной среды сложного фазового состава [14]. Расчеты выполнены путем решения многоскоростного уравнения переноса методом Монте-Карло; граничные условия численного эксперимента адекватно отражали схему опыта. Детали вычислительного алгоритма изложены в работах [10, 13, 14]. Спектры флуоресценции, рассчитанные в зависимости от глубины проникновения в лист со стороны адаксиальной поверхности, приведены на рис. 3.

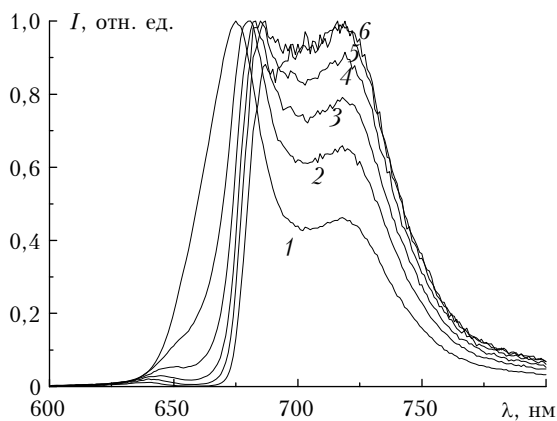


Рис. 3. Спектры флуоресценции $I(\lambda)$ (кривые 1–6), рассчитанные в зависимости от глубины проникновения в лист с шагом 50 мкм от адаксиальной поверхности; геометрическая толщина листа 300 мкм

Результаты расчетов наглядно иллюстрируют качественную трансформацию спектра индуцируемой флуоресценции хлорофилла по мере прохождения поперечной толщины листа (кривые 1–6 рассчитаны с шагом в 50 мкм). Нетрудно убедиться, что первоначально возникший и диффузно пропущенный спектральные сигналы флуоресценции (соответственно кривые 1 и 6), отражающие результаты измерений, находятся в хорошем качественном соответствии с экспериментальными спектрами (см. рис. 2,

кривые 1, 2). Полученные данные не противоречат также аналитическим оценкам [14], указывающим на важную роль процессов реабсорбции в формировании спектров эмиссии индуцируемой флуоресценции.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 07-01-00509, 09-01-00698, 09-07-00477).

1. Поздняков Д.В., Лясковский А.В., Грассл Х., Петтерсон Л. Численное моделирование трансспектральных процессов (ТП) взаимодействия света с водной средой // Исслед. Земли из космоса. 2000. № 5. С. 3–15.
2. Liu C.H., Das B.B., Glassman W.L., Tang G.C. Raman, fluorescence and time-resolved light scattering as optical diagnostic techniques to separate diseased and normal biomedical media // J. Photochem. Photobiol. 1992. V. 16. P. 187–209.
3. Cerovic Z.G., Samson G., Morales F., Tremblay N., Moya I. Ultraviolet-induced fluorescence for plant monitoring: present state and prospects // Agronomie. 1999. V. 19. P. 543–578.
4. Ломаев М.И., Соснин Э.А., Тарасенко В.Ф., Шутц Д.В., Скакун В.С., Ерофеев М.В., Лисенко А.А. Эксилампы барьерного и емкостного разрядов и их применение (обзор) // Приборы и техн. эксперим. 2006. Т. 49. № 5. С. 5–26.
5. Ломаев М.И., Скакун В.С., Соснин Э.А., Тарасенко В.Ф., Шутц Д.В., Ерофеев М.В. Эксилампы – эффективные источники спонтанного УФ- и ВУФ-излучения // Успехи физ. наук. 2003. Т. 173. № 2. С. 202–217.
6. Tarasenko V.F., Sosnin E.V. VUV and UV exilamps and their applications // Proc. SPIE. 2006. V. 6261. P. 361–370.
7. Креков Г.М., Крекова М.М., Лисенко А.А., Суханов А.Я., Ерофеев М.В., Ломаев М.И., Тарасенко В.Ф. Оценка эффективности гибридной LIDAR-DOAS схемы лидарного зондирования загрязненной атмосферы на основе импульсных эксилламп // Изв. вузов. Физ. 2009. (В печати).
8. Креков Г.М., Крекова М.М., Лисенко А.А., Суханов А.Я. Оценка потенциальных возможностей широкополосного лидара для дистанционного зондирования загрязненной атмосферы // Тезисы докл. III Всерос. конф. по взаимодействию высококонцентрированных потоков энергии с материалами в перспективных технологиях и медицине. Новосибирск, март, 2009. Новосибирск: Сибирское научн. изд., 2009. С. 85–86.
9. Креков Г.М., Крекова М.М., Лисенко А.А., Суханов А.Я., Ерофеев М.В., Ломаев М.И., Тарасенко В.Ф. Потенциальные возможности импульсных эксилламп для дистанционного зондирования загрязненной атмосферы // Оптика и спектроскопия. 2009. (В печати).
10. Креков Г.М., Крекова М.М., Матвиенко Г.Г., Суханов А.Я. Статистическое моделирование трансспектральных процессов при лазерном зондировании окружающей среды. 2. Лазерно-индуцированная флуоресценция; результаты модельных оценок // Оптика атмосфер. и океана. 2007. Т. 20. № 3. С. 262–267.
11. Swanberg S. Fluorescence lidar monitoring of vegetation status // Phys. scr. T. 1995. V. 58. P. 79–85.
12. Corp L.A., McMurtney J.E., Middleton E.M., Mulchi C.L., Chappelle E.W., Daughtry C.S. Fluorescence sensing systems: In vivo detection of biophysical variations in field corn due to nitrogen supply // Remote Sens. Environ. 2003. V. 86. P. 470–479.

13. Krekov G.M., Krekova M.M., Lisenko A.A., Matvienko G.G. Reabsorption of laser-induced fluorescence in a plant canopy: Stochastic model // Opt. and Spectrosc. 2009. V. 106. N 4. P. 514–519.
14. Krekov G.M., Krekova M.M., Lisenko A.A., Sukhanov A.Ya. Radiative characteristics of plant leaf // Atmos. and Ocean. Opt. 2009. V. 22. N 2. P. 241–256.

G.M. Krekov, A.A. Lisenko, G.G. Matvienko, E.V. Sosnin. **Exciplex lamps as a new instrument of the fluorescent spectroscopy.**

The paper describes the results of *in situ* and numerical experiments connected with the investigation of the space gradient of chlorophyll fluorescence in the volume of a plant leaf. We demonstrated for the first time that the continuum of UV radiation of exciplex lamps can serve as an effective source inducing the process of spontaneous fluorescence of a leaf photosystem. The estimations made, using the Monte Carlo method, confirm that the basic reason for transformation of emission spectrum of induced fluorescence in the leaf volume transmission are the reabsorption processes.