

这是吴鸣发表的第一篇学术论文

浙江林学院学报 1988, 5(1): 58~62

Journal of Zhejiang Forestry College

光声光谱技术在植物叶子结构与功能分析中的应用

吴 鸣¹⁾ 王之玉 俞稼镛

(中国科学院感光化学研究所)

摘 要 用光声光谱技术测试了黄杨叶片, 分析了其层状结构与功能的关系, 探索了这一原位测试技术在植物学研究中的应用的前景。

关键词 光声光谱; 黄杨叶片; 原位测试

1 前 言

自1976年Rosencwaig和 Gersho 提出固体光声光谱理论^[1]后, 光声光谱(PAS, photoacoustic spectroscopy)技术得到了普遍的重视。在测定生物样品方面, 利用PAS对样品可作原位测定或初始态测定的特点^[2-3], 可直接对活体样品进行光谱测定。另外, 因为PAS技术可测定不透明、全透明、高反射和高散射样品, 使得以往用常规光谱法难以测定的样品有可能用它来加以测定。

在测定植物叶子方面已有一些尝试^[4-7, 12]。Adams和Kirkbright把完好的菠菜叶子的光声光谱与捣碎了的菠菜叶子的光声光谱相比较得到的谱图和所提取的叶绿素的吸收光谱完全一致^[4]。

本文用 PAS 技术测试了黄杨(*Buxus sinica* Cheng)叶片, 分析了其层状结构与功能的关系, 探索了这一原位测试技术在植物研究中的应用的前景。

2 实验装置

实验装置是自制的微机联用单光束型光声光谱仪, 其原理如图1所示。光源采用500W氙灯。光声池由不锈钢制成, 腔内体积约为0.8cm³。斩波器和锁相放大器是EG&G公司产品, 模数一致模转换器为MS1211型。微机执行实时同步采样后, 调出碳黑谱作谱图归一化处理及谱图存档和输出记录等工作。系统程序还带有相位变换、数据平滑等特殊功能块。联机工作框图如图2所示。

收稿日期: 1987年8月27日

1) 浙江林学院教师, 中国科学院感光化学研究所代培硕士研究生。

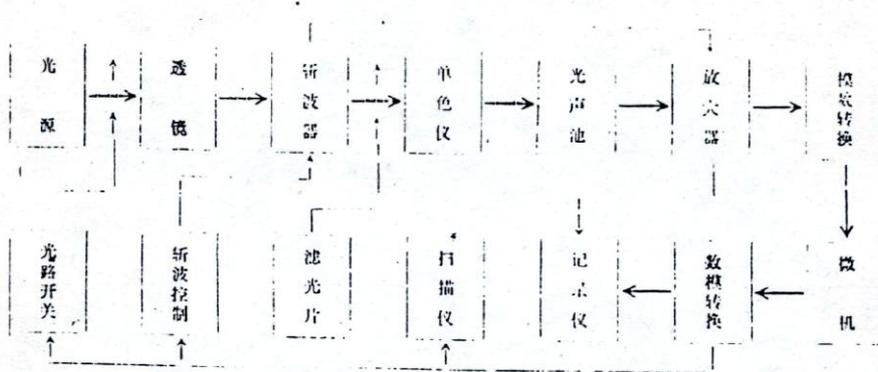


图1 单光束型光声光谱仪示意图

Fig. 1 Schematic diagram of monobeam photoacoustic spectrometer

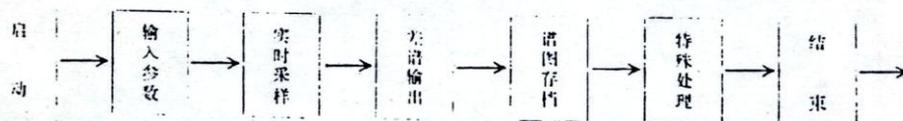


图2 联机工作示意图

Fig. 2 Schematic diagram of the computer on-line operation

3 实验结果与讨论

黄杨是我国庭园常见的一种观赏植物, 测试叶片是采取主枝的上部成年叶。我们用PAS技术在可见到紫外波段对它作初始态的测定。每次测定时, 入射光都照在相同的叶面上。

3.1 黄杨叶片上、下表皮谱

PAS技术是一种表面原位分析技术, 入射调制光被样品吸收后部分以无辐射跃迁方式释放出热量, 热扩散导致在光声池中引起周期性“压胀”而被灵敏声感元件检测到。在距样品表面一定深处的PAS信号因热扩散到达表面需要一定时间而不能在同频同相位条件下得到检出。在我们的实验中, 黄杨叶片上、下表皮谱见图3。图中曲线a是叶片上表皮谱, 曲线b是下表皮谱。由图可知, 黄杨叶片上、下表皮均存在以400 nm为特征吸收的蜡质素。曲线a和b不同之处在于: 一是曲线a在500~600 nm处有一小峰; 二是曲线b在430~500 nm及680 nm处的吸收峰依稀可见。合理的解释是曲线a中500~600 nm小峰不属于蜡质素, 因为在曲线b中没有它的应有吸收峰。下面我们还将看到, 该小峰也不属于柔组织中的叶绿体。从化学结

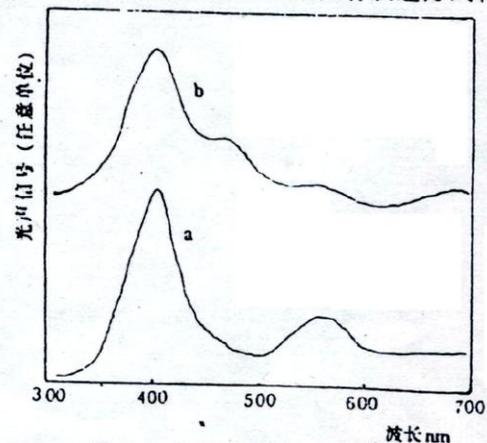


图3 黄杨叶片上、下表皮谱

a. 上表皮 b. 下表皮

Fig. 3 PAS of epidermises of the leaf-blade of *Buxus sinica*

构上看,植物蜡通式是 $C_nH_{2n-1}-CO-O-C_nH_{2n-1}$,因不存在大兀键共轭体系和其它的吸收基团,所以吸收波长难以落在红区。由此可以推测,500~600nm 的吸收峰既不归属于叶绿体也不属于植物蜡。黄杨叶片下表皮很薄,以至在相同测定条件下,曲线 b 显示了部分柔组织的吸收特性。另一方面,下表皮也可能有较多的气孔,使得柔组织中产生的热扩散至表面所需时间缩短,因而得到了部分柔组织的 PAS 信号。表皮在厚度上及气孔多少、大小上的差异是符合常理的。

3.2 黄杨叶片柔组织谱

Kirkbright 等人的工作表明,对于物质内层的 PAS 信号由于表层的存在而滞后一定的时间。利用改变相位测量技术有可能得到内层的 PAS 信号^[9]。我们利用这一技术对黄杨叶片的两面作了改变相位的测定,结果见图 4,它与图 3 大不一样。为了证明图 4 中两条曲线就是柔组织中的栅栏组织和海绵组织的 PAS 信号,我们小心地将叶片的两个组织分开,分别测定了它们的 PAS 信号,结果如图 5 所示。除去叶片上表皮的 PAS 信号如图 6 所示,它和图 5 中栅栏组织信号基本一致。峰值大小上的差异反映了同一栅栏组织中不同层次上的叶绿素、胡萝卜素等的含量的不同。而通过直接的方式测定的柔组织的信号与通过改变相位的间接的方式所测的柔组织的信号可以类比。这一结果为原位测定生物样品内部光谱吸收提供了可能有效而简便的方法。

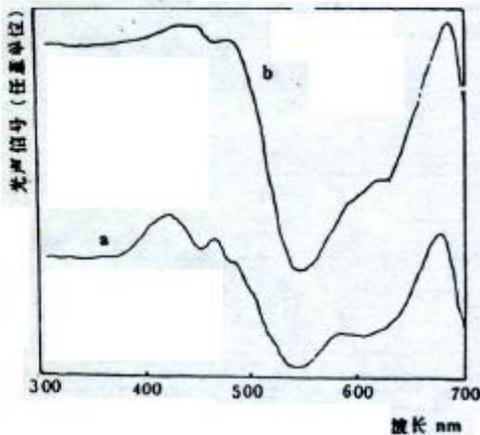


图 4 改变相位的黄杨叶片光声谱

Fig. 4 PAS of the parenchyma of the leaf-blade of *Buxus sinica* in changed phase angle

入射光方向, a 上叶面, b 下叶面

a. Upperlayer, b. Underlayer

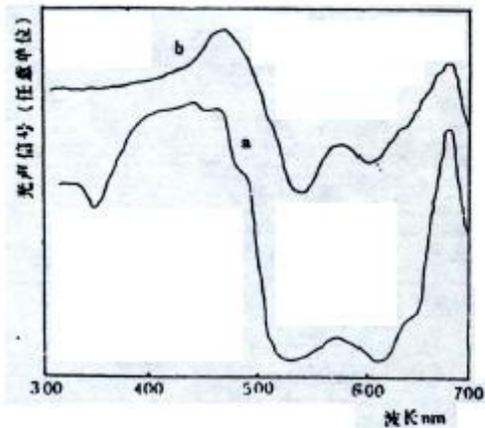


图 5 直接测定的黄杨叶片柔组织谱

Fig. 5 PAS of the parenchyma of the leaf-blade of *Buxus sinica* by direct measurement

a. 栅栏组织, b. 海绵组织

a. Palisade tissue, b. Spongy tissue

3.3 黄杨叶的柔组织吸收带归属

传统方法用色层分析技术已获得了绿叶的结构成份信息。叶片中含有叶绿素、叶黄素和胡萝卜素等^[2]。我们用 PAS 技术作了对照测试。按文献^[9]方法提取的叶绿素 a 和叶绿素 b 的 PAS 信号见图 7 和图 8。常规吸收光谱测定叶绿素时,由于采用不同的溶剂或同一溶剂不同浓度时都会使叶绿素吸收峰发生位移^[10-11,14]。典型的吸收光谱是在丙酮稀溶液中做

的^[12,13,14]。其谱图见图7和图8中的虚线部分。由图可知,两种光谱法的差别仅在于PAS峰的红移^[4,7]。这一结果说明常规光谱技术在对叶绿素作非初始态的测定时造成了蓝移。众所周知,在吸光光度法中,存在一种浓度效应,即浓度愈稀,蓝移愈多。因此,我们有理由认为,PAS技术真实地提供了叶绿素吸收光谱的信息。

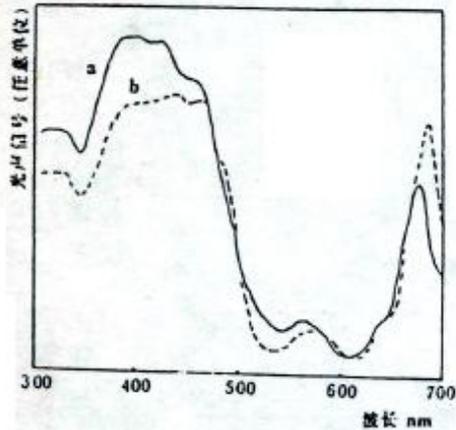


图6 除去上表皮的黄杨叶片光声谱
(虚线为图5中的曲线a)
Fig. 6 PAS of *Buxus sinica* without upper epidermis Curve a in Fig. 5 (----)

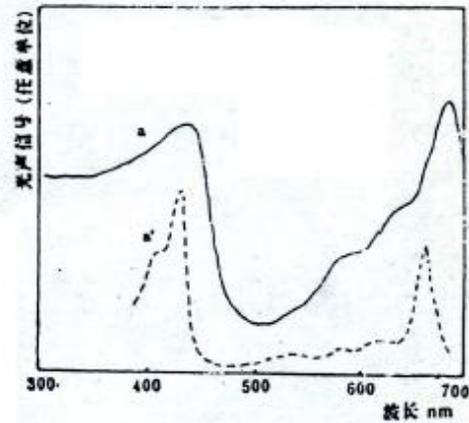


图7 叶绿素a谱
Fig. 7 Spectra of chlorophyll a
a. 光声光谱法(—), a'. 吸收光谱法(----)
a. photoacoustic spectrometry (—), a'. spectrophotometry (----)

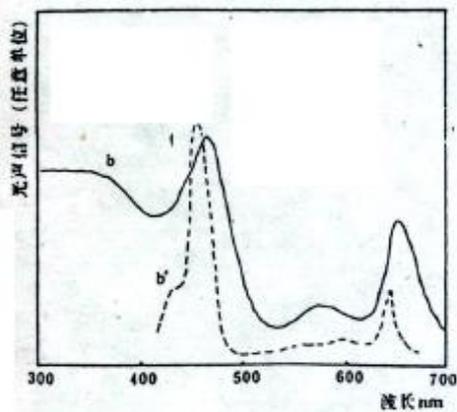


图8 叶绿素b谱
Fig. 8 Spectra of chlorophyll b
b. 光声光谱法(—), b'. 吸收光谱法(----)
b. photoacoustic spectrometry (—), b'. spectrophotometry (----)

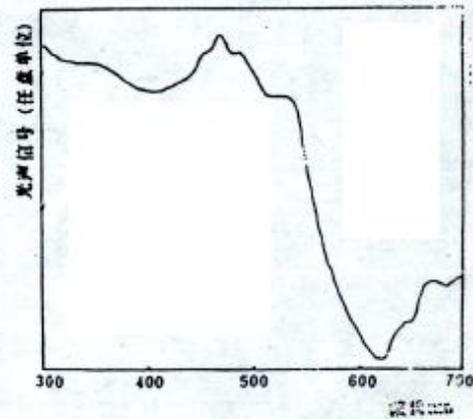


图9 胡萝卜素谱
Fig. 9 Spectrum of carotene

由图5至图8可见,所测黄杨叶片柔组织基本是由叶绿素a组成的。420 nm是soret带,675 nm是叶绿素特征吸收带^[12]。而675 nm前小尖峰则是少量的叶绿素b的吸收峰。

4 小 结

我们认为,用PAS技术对植物叶片的结构作初始态测定是很有意义的。在我们的工作中,用PAS技术看到了黄杨叶片上、下表皮在结构上的差异。较厚的蜡质层和较少的气孔组成了叶子的上表皮,使黄杨能有效地避免紫外光辐射、水份的过度蒸发、害虫的侵入和机械损伤。蜡质层的厚度与植物的抗寒抗旱能力相关,蜡质素的类型则关系到植物保护和植物的分类。我们还发现,在黄杨叶片上表皮中存在一种既非属蜡质素亦非属叶绿素的未知成份。叶肉中的栅栏组织和海绵组织具有相似的吸收特性,但吸收峰即使都是栅栏组织在不同层次上也不尽相同。通过改变相位的方法可以原位地得到叶片柔组织的光谱吸收信息。叶绿素a的PAS峰主要是680 nm和435 nm,叶绿素b的PAS峰主要是660 nm和465 nm。与常规的吸收光谱相比均有约20 nm的红移。我们认为这是由于常规光谱对叶绿素作初始态测定时所造成的蓝移。对叶绿素a和b含量比的解析,有助于了解该植物的光合作用途径及强度,a/b含量比也关系到碳同化过程,这些用PAS技术来研究或许是很有效的。而对于柔组织的400~500 nm宽频吸收带的评价有利于对阳性叶和阴性叶的定量检出。

参 考 文 献

- 1 Rosencwaig, A. & Gersho, A. *J. Appl. Phys.*, 1976, 47,64
- 2 Rosencwaig, A. *Phys. Today* 1975, 28(90):23
- 3 Rosencwaig, A. *Sci.*, 1973, 181,657
- 4 Adams, M. J. & Kirkbright, G. F. *et al. Analyst*, 1976, 101,553
- 5 Kirkbright, G. F. *et al. Analyst*, 1984, 109,1443
- 6 Kenji Kato, *et al. Chem. Letters*, 1980,783
- 7 Helander, P. & Lundstrom, I. *J. Appl. Phys.*, 1981, 52(3),1146
- 8 Adams, M. J. & Kirkbright, G. F. *et al. Analyst*, 1977, 102,678
- 9 Staun, H. H. *et al. Biochem. Biophys. Acta*, 1963, 75,305
- 10 Fredrick, R. L. *Porphyrim Chem. Advances. Ann. Arbor. Michigan*, 1979, :5
- 11 Berezin, B. D. *Coordination Compounds of Porphyrins & Phthalocyanines*. John Wiley & Sons Ltd. 1981,147
- 12 董文锦等. *光学与光谱技术*. 1982, 3(4),42
- 13 中国科学院植物生理研究所译. *植物生理实验*. 北京: 科学出版社, 1974
- 14 梅植安. *光合作用研究进展第2卷*. 北京: 科学出版社, 1980, 19

(责任编辑 管康林)

Wu Ming *et al.* (Institute of Photographic Chemistry, Academia Sinica). 1988.
Application of photoacoustic spectroscopy technique to examination of the plant leaves. *J. Zhejiang For. Coll.* 5(1):58~62

Abstract: This paper reported the application of photoacoustic spectroscopy technique to analyze the structure of the leaves of *Buxus sinica* Cheng, discussed the relationship between the structure and the function, and probed into the prospects for application of this technique to the botany research.

Key words: photoacoustic spectroscopy technique, leaves of *Buxus sinica* Cheng, situ measurement