

雷射在浮游生物上的應用

台灣大學 劉子銘老師

雷射是指窄幅頻率的光輻射線，透過受激輻射放大和必要的反饋共振，產生准直、單色、相干的光束的過程及儀器。基本上，產生雷射需要「共振結構」(resonance structure)、「增益介質」(gain medium)及「激發來源」(pumping source)這三個要素。

原理

一. 受激輻射

電子的運動狀態可以分為不同的能級，電子從高能級向低能級躍遷時，會釋放出相應能量的電磁波(所謂自發輻射)。一般的發光體中，這些電子釋放光子的動作是隨機的，所釋放出的光子也沒有相同的特性，例如鎢絲燈發出的光。

當外加能量以電場、光子、化學等方式注入到一個能級系統並為之吸收的話，會導致電子從低能級向高能級躍遷(所謂受激吸收)，當自發輻射產生的光子碰到這些因外加能量而躍上高能級的電子時，這些高能級的電子會因受誘導而遷到低能級並釋放出光子(所謂受激輻射)，受激輻射的所有光學特性跟原來的自發輻射包括：頻率、相位、前進方向等會是一樣的，這些受激輻射的光子碰到其他因外加能量而躍上高能級的電子時，又會再產更多同樣的光子，最後光的強

度越來越大（即光線被放大了），而與一般的光不同的是所有的光子都有相同的頻率、相位、前進方向。

要做到光放大，就要產生一個高能級電子比低能量級電子數目多的環境，即群數反轉（**population inversion**），這樣才有機會讓高能級電子碰上光子來釋放新的光子，而不是隨機釋放。

一般雷射發產生器有三個基本要素：

1. 「**激發來源**」（**pumping source**），把能量供給低能級的電子，激發使其成為高能級電子，能量供給的方式有電荷放電、光子、化學作用…。
2. 「**增益介質**」（**gain medium**），被激發、釋放光子的電子所在的物質，其物理特性會影響所產生雷射的波長等特性。
3. 「**共振腔**」（**resonator**），是兩面互相平行的鏡子，一面全反射，一面半反射。作用是把光線在反射鏡間來回反射，目的是使被激發的光經過增益介質多次以得到足夠的放大，當放大到可以穿透半反射鏡時，雷射便從半反射鏡發射出去。因此，此半反鏡也被稱為（**output coupler**）。兩鏡面之間的距離也對輸出的雷射波長有著選擇作用，只有在兩鏡間的距離能產生共振的波長才能產生雷射。

二. 群數反轉

在一個二級系統中，一個電子自低能級向高能級躍遷和自高能級向低能級躍遷的機率是一樣的。爲了達到光放大的作用，在高能級必須有更多的電子，使得受激輻射發生的機率更高。這個狀態稱爲佔據逆轉。出於這個原因，所以以光子激發的二級系統是無法實作雷射的，所以雷射一般是以透過三級系統和四級系統得到實作。在三級系統中，電子受激躍遷到高能級後，便很快轉爲亞穩態。由此雷射媒介被激發爲高能態，佔據逆轉得到實作。

操作方式

雷射開機好之後會先量頻譜跟功率確定雷射當天的狀況是不是正常，然後把光路導向正立顯微鏡(通常是用來做比較厚的樣本用的，可以看雷射穿透的影像，不能穿透時就看表面反射的影像)，先用樹葉調整光路到訊號最強，再換上樣本來觀察影像，由於使用的是水鏡，在樣本放上玻片後，除了蓋玻片之外，要在物鏡與載玻片之間也滴上去離子水(ddH₂O)，樣本擺好後，先看平光下的影像以對焦，然後才切換到雷射影像模式，起初雷射是被擋住的，正是爲了避免雷射持續照射樣本造成樣本的破壞或螢光的過度激發，開始觀察影像時，才由 OLYMPUS 的 FLUOVIEW 軟體來 focus 雷射光：把雷射擋板移開，以讓雷射光聚焦在樣本上。接著增加光電倍增管(PMT)

的電壓，螢光與二倍頻(SHG)三倍頻(THG)均有不同的 PMT，這是用來蒐集被激發出來的螢光或倍頻訊號，如果一切正常無誤，FLUOVIEW 軟體視窗上就可以看到影像，再依所需尋找想要的影像位置與深度，儲存圖檔，對於較厚的樣本我們也用 FLUOVIEW 內的功能來橫向掃描不同深度的影像，以擷取樣本在 z 軸方向上不同深度的連續影像，有點類似斷層掃描，並且可以存成影片，若能將樣本觀察到的位置仔細定位，可以在不同的研究手法中比對，在倍頻或螢光影像下的亮點是否代表著什麼資訊，因為目前還有很多研究可以去探討樣本的某種狀態是否會改變其發出的螢光訊號或倍頻訊號，可以藉此做為某些判別的根據。







