

叶绿素 a 二聚体激发三重态吸收谱及其弛豫动力学过程的研究

刘一先

J A Koningstein

(复旦大学物理系, 200433)

(The Ottawa-Carleton Chemistry Institute, Department of Chemistry,
Carleton University, Ottawa, Ont. K1S 5B6 Canada.)

摘要: 本文报道用时间分辨差分吸收法测量叶绿素 a 二聚体激发三重态的吸收谱的实验装置和实验结果。给出了三重态受主能级 $T_1(A)$ 和施主能级 $T_1(D)$ 的吸收极大值和次极大值以及它们的寿命。

关键词: 叶绿素 a 二聚体, 时间分辨差分吸收法

Investigation of excited triplet absorption spectrum and relaxation kinetics of dimeric chlorophyll a

Liu Yixian

(Department of Physics, Fudan University, Shanghai)

J. A. Koningstein

(The Ottawa-Carleton Chemistry Institute, Department of Chemistry, Carleton
University, Ottawa, Ont. K1S 5B6, Canada)

Abstracts: The experimental set-up of time resolved, differential absorption used to measure the excited triplet absorption spectrum of dimeric chlorophyll a and the experimental results are reported. The peak absorption of the excited triplet of $T_1(A)$ and $T_1(D)$ are at 462nm and 466nm, and the subsidiary maxima at 510nm and 526nm, respectively. The triplet lifetime of $T_1(A)$, $T_1(D)$, measured with a time-resolved double-beam method, is $\tau_A^T = 9.8 \pm 0.5, \mu s$ and $\tau_D^T = 80 \pm 4 \mu s$, respectively.

Key words: dimeric chlorophyll a , time-resolved differential absorption method

一、前 言

叶绿素 a 是一种天然色素, 由于它在光合作用中起着重要的作用, 因而人们对它进行了广泛的研究。叶绿素 a 溶于溶液中的吸收谱由 Soret 和 Q 吸收带所表征, 其吸收范围分别为 400~450 nm 和 600~720 nm^[1~3]。

吸收法、荧光法和共振 Raman 光谱法已广泛地应用于研究分子的能级结构^[4]。最近,时间分辨的双光束法已应用于研究单体叶绿素 α 激发单重态和三重态的吸收谱^[5,6]。但,有关叶绿素 α 二聚体激发单重态和三重态受主能级和施主能级的吸收谱至今没有文献报道。本文采用时间分辨的泵浦-探测方法研究了叶绿素 α 二聚体激发单重态和三重态的差分吸收谱,实验表明叶绿素 α 二聚体激发三重态受主能级 $T_1(A)$ 和施主能级 $T_1(D)$ 的吸收极大值分别位于 462 nm 和 466 nm 以及其次极大值分别处于 510 nm 和 526 nm。

由于叶绿素 α 三重态的磷光量子效率很低(10^{-5})^[7], 研究其三重态的粒子数衰减十分困难。应用光学检测磁谐振(ODMR)^[8]、瞬态吸收^[9]、延迟荧光^[10,11]以及直接磷光技术^[1]可获得叶绿素 α 三重态的信息。但同样没有文章介绍有关叶绿素 α 二聚体三重态受主能级 $T_1(A)$ 和施主能级 $T_1(D)$ 的寿命。本文应用时间分辨的双光束方法研究了其三重态寿命,同时还测量了由于热透镜效应对三重态寿命的影响。实验证明三重态 $T_1(A)$ 的弛豫速率比 $T_1(D)$ 的约快 8 倍。

二、实验部分

实验装置示于图 1。一台脉冲准分子激光器(波长为 308 nm, 脉宽为 4~7 ns, 脉冲能量

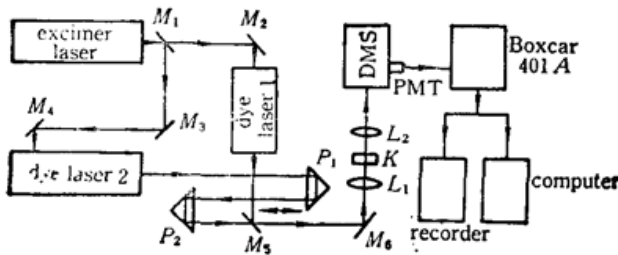


Fig. 1 Schematic diagram of the experimental setup

为 35 mJ, 重复频率为 25 Hz/s)用于同时泵浦二台可调谐染料激光器, 染料激光器 1 输出波长范围从 650~693 nm 用作泵浦光源。染料激光器 2 采用几种不同染料, 其荧光波长范围从 400~600 nm 用作探测光源。探测脉冲光通过由棱镜 P_1 和 P_2 组成的光学延迟线之后在双色镜 M_5 的前表面与泵浦光束重叠, M_5 透过蓝色探测光而反射红色泵浦光, 二束光经会

聚透镜 L_1 ($f_1=50\text{mm}$)共线聚焦到样品池 K 中, 透过样品池的光束由透镜 L_2 ($f_2=100\text{mm}$)收集到双单色仪 DMS(model Jobin-Yvon)的狭缝中, 经色散后由光电倍增管 PMT(ROA 31034)接收并送到 Boxcar(Stanford Research Associates Model SR 250, 235, 275 and 245)系统进行处理和记录, 整个实验系统用计算机(Model Raven PC-XT)控制。

在我们的时间分辨差分吸收实验中, 测量透射探测光强作为泵浦脉冲光开启 $I_{pp}(t, \lambda)$ 和关闭 $I_p(t, \lambda)$ 时的时间和波长的函数。泵浦光调谐到叶绿素 α 二聚体的 Q 吸收带的第一单重激发态的施主(donor)能级 $S_1(D)$ 或受主(acceptor)能级 $S_1(A)$, 如图 2(b)中所示。泵浦脉冲光的脉冲宽度约为 4 ns, 令脉冲的极大值处为 t_0 , 对于差分吸收谱可表示为^[6]

$$A = \ln I_p(t, \lambda) / I_{pp}(t, \lambda) = [\sigma_{1m}(\lambda) - \sigma_{0n}(\lambda) - \sigma_{10}(\lambda)] N_1(t) + [\sigma_T(\lambda) - \sigma_{0n}(\lambda)] N_T(t) \dots \quad (1)$$

式中 $N(t)$ 是在泵浦脉冲光学路径上与时间有关的总的粒子数; σ_{0n} , σ_{1m} 和 σ_T 分别为基态 S_{0n} , 第一激发单重态 S_1 和激发三重态 T_1 的吸收截面; 而 σ_{10} 是第一激发单重态的受激辐射截面, 对于叶绿素 α 二聚体此值很小, 可忽略不计。

从(1)式中可以看出, 差分吸收信号由三部分组成: 基态 S_0 , 激发单重态 S_1 和激发三重态 T_1 。基态 S_0 的吸收信号为负值而激发态的贡献则为正值。由于第一激发单重态的寿命(几个 ns)相对三重态的寿命(从 μs 到 ms)来说要小很多, 所以利用时间分离方法可以分解出单重态和三重态的吸收谱信号。激发单重态的吸收谱可写为

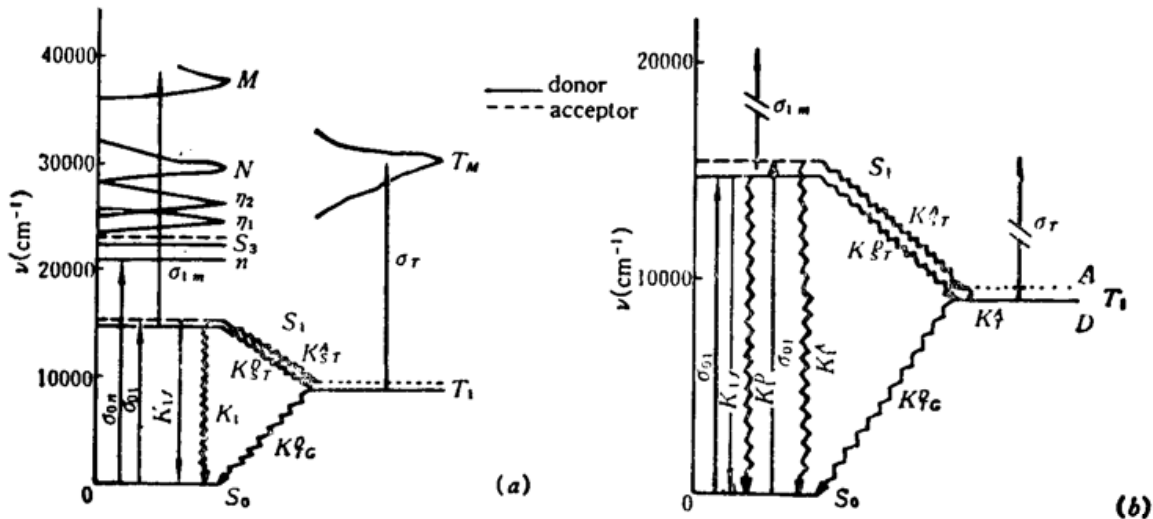


Fig. 2 (a) Energy levels of chlorophyll *a* resolved in hexane; (b) Energy levels related to pump-probe and population relaxation processes of dimeric chlorophyll *a*

$$A^s = \ln I_p(t, \lambda) / I_{pp}(t, \lambda) = [\sigma_{1m}(\lambda) - \sigma_{0n}(\lambda)] N_1(t) \dots \quad (2)$$

对于激发三重态为

$$A^T = \ln I_p(t, \lambda) / I_{pp}(t, \lambda) = [\sigma_T(\lambda) - \sigma_{0n}(\lambda)] N_T(t) \dots \quad (3)$$

叶绿素 *a* 二聚体激发三重态的弛豫, 同样应用双光束的泵浦-探测方法可测定, 实验装置的差异仅在图 1 中用一台连续运转的氩离子激光器(Coherent Model CR-4)取代脉冲染料激光器 2, 并在 Boxcar 的信号输入端并接一只 50 kΩ 的输入电阻以便提高测量信号幅度, 但损失了整个探测系统的时间分辨率, 在本系统中的时间分辨率约为 1.5 μs, 这个分辨本领相对于叶绿素 *a* 二聚体激发三重态的寿命($\tau_T \geq 10 \mu s$)来说是能满足的。

对于三重态粒子的弛豫测量的基本原理是, 在 $t=0$ 时给 Boxcar 一个触发信号, $t=t_0$ 时泵浦脉冲激发样品到第一激发单重态的 $S_1(D)$ 能级或 $S_1(A)$ 能级(见图 2(b))然后激发单重态的粒子通过内部交叉无辐射弛豫到三重态的 $T_1(D)$ 或 $T_1(A)$ 能级, 这时我们用一台连续运转的氩离子激光器输出的 457.9 nm 光通过样品的激发区, 测量在样品被激发前、激发期间和激发后探测光强度的变化过程。设激发前接收到的探测光信号强度 I_0 , 随着样品的被激发, 单重态的粒子不断转移到三重态, 这一过程由实验证明为几毫秒, 由于三重态粒子数的积累和对探测光的吸收, 其信号强度由 I_0 变化到接近于 0, 由于三重态粒子数的衰减探测光信号逐步恢复到 I_0 值, 移动 Boxcar 的取样门可以测得整个探测光的信号强度变化过程, 由此可测得三重态的粒子弛豫时间 τ_T , 这是一种直接测量三重态粒子寿命的可靠方法。

实验中采用了二种叶绿素 *a* 样品: 上海植物生理研究所制备的和 J. A. Konigstein 实验室自制的, 两种样品具有相同的纯度。叶绿素 *a* 溶解于经干燥后的己烷中, 形成聚合体。

样品池采用了 $2 \times 2 \times 30 \text{ mm}$ 和 $10 \times 10 \times 30 \text{ mm}$ 二种类型的石英池, 为了消除热效应, 置于样品池 $2 \times 2 \times 30 \text{ mm}$ 中的叶绿素 a 溶液采用了循环流动的方式。

三、实验结果与讨论

3.1 叶绿素 a 二聚体第一激发单重态与基态吸收谱的关系

当叶绿素 a 溶解于己烷中会聚合成二聚体, 一个二聚体分子由施主和受主分子组成, 它们之间具有一定的夹角 θ (经我们用双光束偏振共振 Raman 法和双光束透射法测得其 Q_y 轴之间的夹角为 $70^\circ \pm 5^\circ$)。组成二聚体后的施主和受主分子的光学特性与其单体时的性能完全不同, 同时它们之间的性能也不相同。测量叶绿素 a 溶解于经干燥的己烷中, 浓度约为 10^{-4} M 的基态吸收谱(Q带)的二次微分, 在二次微分谱中的极小值位于 663 nm 和 678 nm , 对应于二聚体中受主和施主能级的吸收峰。

实验中还测量了激发单重态的选择激发谱, 当泵浦光调谐到 $680 \sim 672 \text{ nm}$ 和 $668 \sim 658 \text{ nm}$ 范围时, 则能有效地把粒子从基态分别激发到叶绿素 a 二聚体中的施主能级 $S_1(D)$ 和受主能级 $S_1(A)$ (见图 2(b)), 如果泵浦光强足够强则能使单重激发态饱和。

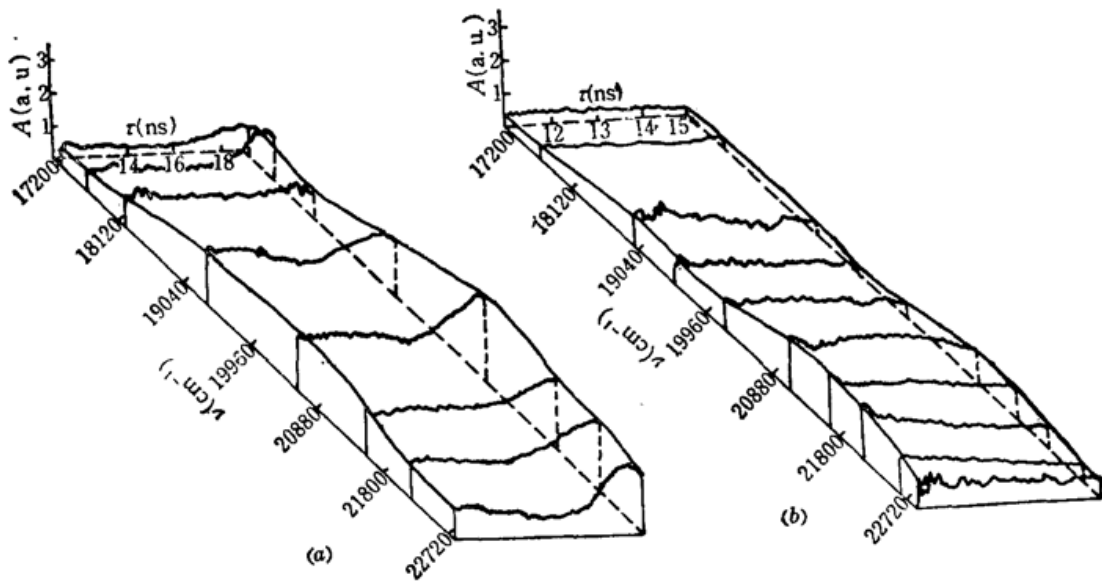


Fig. 3 (a) Time resolved differential absorption spectra of excited triplet $T_1(A)$ of dimeric chlorophyll a ;
(b) Absorption spectra of $T_1(D)$ energy level

3.2 叶绿素 a 二聚体激发三重态吸收谱

由于从基态到三重态是禁戒跃迁, 为了测量激发三重态的吸收谱, 我们调谐泵浦光到第一单重态的吸收峰处, 把基态粒子首先激发到第一激发单重态并使其饱和。然后, 激发单重态的粒子内交叉弛豫到三重态, 这一过程相对三重态寿命是非常快的 (由实验表明为几 ns), 探测光束相对泵浦光束延迟 11 ns 之后用于探测三重态的光谱特性。实验中是分别固定探测光波长而对时间特性进行扫描, 测得的实验结果见图 3(a) 和 3(b)。图 3(a) 是泵浦光调谐到 662 nm 使受主能级 $S_1(A)$ 饱和, 从图中我们可以看出在每一固定的波长处吸收谱信号从 $t =$

11 ns 到 $t=19$ ns 的变化, 在开始阶段信号逐渐衰减, 然后又上升, 而且在 $t=11$ ns 和 $t=19$ ns 时的吸收谱的形状不完全相同, 这一现象是由于三重态的受主能级 $T_1(A)$ 的粒子无辐射弛豫到三重态的施主能级 $T_1(D)$, 随后产生施主能级 $T_1(D)$ 对探测光的吸收, 所以在 $t=19$ ns 处的吸收谱应是三重态中受主能级和施主能级的混合吸收。图 3(b) 是泵浦光调谐到 676 nm, 使施主能级 $S_1(D)$ 激发饱和, 粒子数从 $S_1(D)$ 能级无辐射弛豫到 $T_1(D)$ 能级, 比较图 3(a) 和图 3(b) 可以看出三重态施主能级 $T_1(D)$ 的吸收信号随时间单调地衰减。

当我们固定延迟时间, 逐段扫描探测光波长, 实验测得的激发单重态 $S_1(A)$, $S_1(D)$ 和激发三重态 $T_1(A)$ 和 $T_1(D)$ 的吸收谱表示在图 4 中, 基态 S_0 的吸收谱也表示在图 4 中。

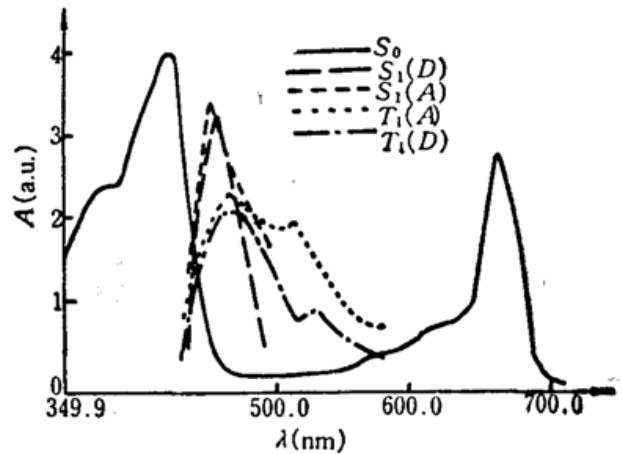


Fig. 4 Absorption spectra of ground state S_0 , excited singlets $S_1(A)$, $S_1(D)$ and excited triplets $T_1(A)$, $T_1(D)$

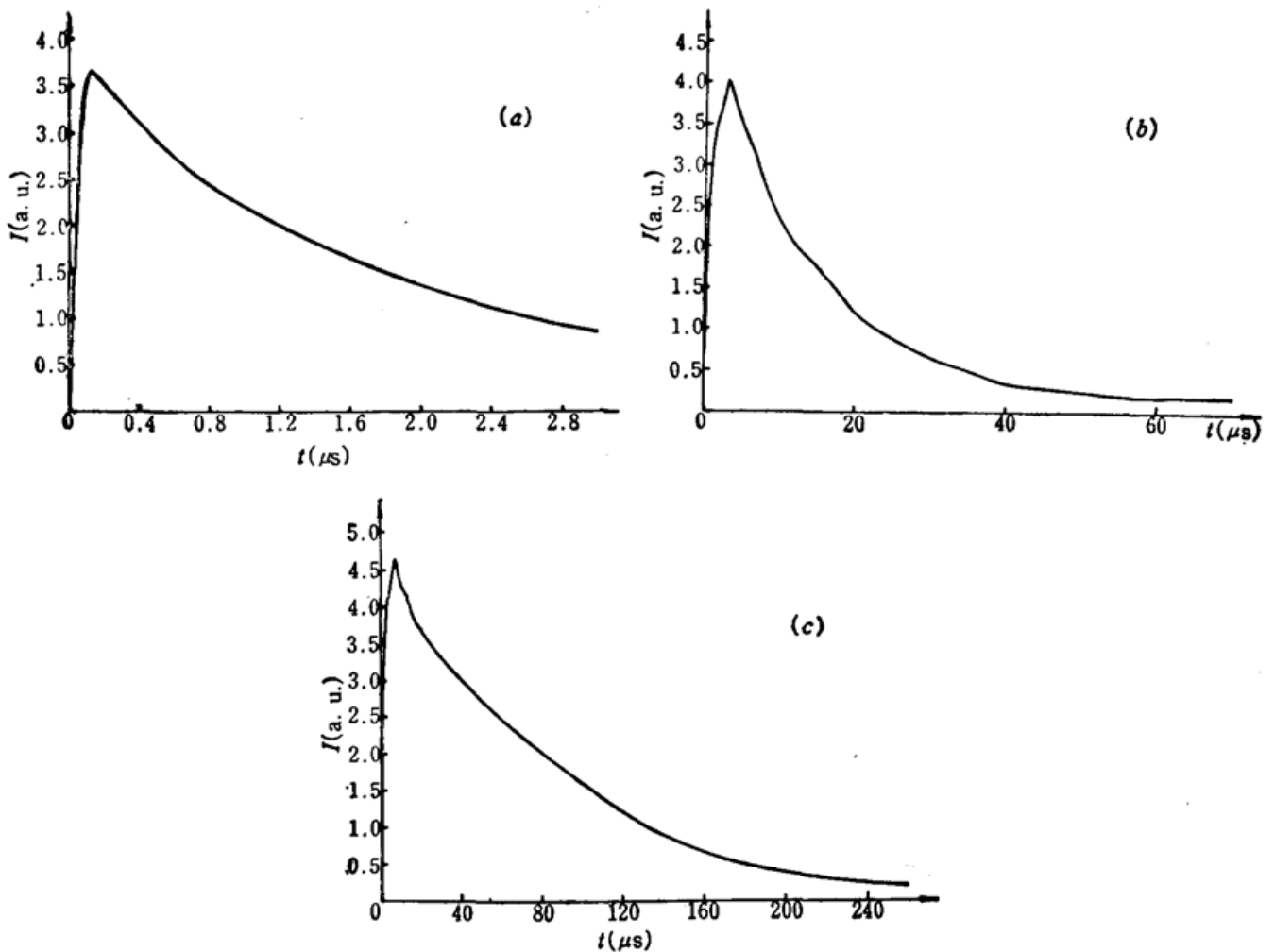


Fig. 5 (a) Waveforms of pump pulses; (b) Population decay curve of $T_1(A)$ energy level; (c) population decay curve of $T_1(D)$ energy level. The sample flows rapidly in cycle

3.3 三重态粒子寿命的测量

我们用泵浦-探测方法测量的叶绿素 *a* 二聚体三重态粒子的寿命, 其典型波形示于图 5(b)和 5(c)中。图 5(a)是用我们的测量系统测得的泵浦脉冲波形(实际脉宽为 4 ns), 由图可以看出探测系统的时间分辨率约为 $1.5 \mu\text{s}$ 。图 5(b)是三重态受主能级 $T_1(A)$ 的粒子衰减曲线, 从图中曲线的最大值衰减到极大值的 $1/e$ 处为 $\tau_T^A = 9.8 \pm 0.5 \mu\text{s}$, 而图 5(c)是三重态施主能级 $T_1(D)$ 粒子的衰减曲线, 其 $\tau_T^D = 80 \pm 4 \mu\text{s}$ 。图 5(b)和 5(c)曲线是样品采用了快速流动条件下测得的, 因而消除了样品的热效应。图 6(a)和图 6(b)是样品在慢速流动和不流动的条件下测得的三重态施主能级 $T_1(D)$ 的寿命, 由图中曲线可见其寿命明显地增加。从图 6(b)中我们还可看出曲线除快速上升部分外, 还有一慢上升过程, 然后缓慢的下降持续到 3 ms 以上, 这是由于样品的热透镜效应所引起, 因此在寿命的测量中消除热透镜效应是很重要的。

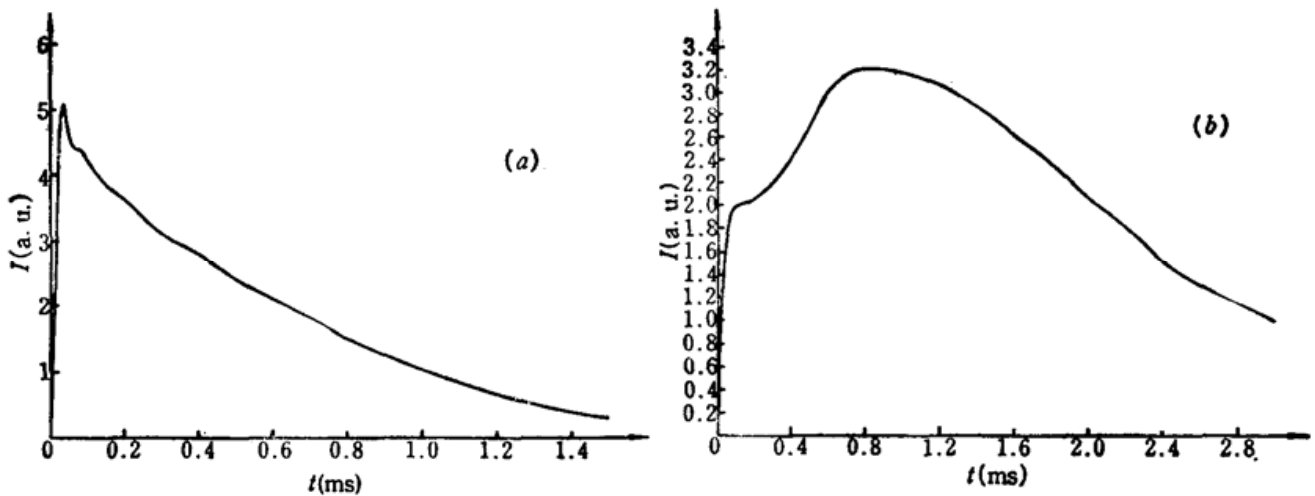


Fig. 6 Population decay curve of the excited triplet $T_1(D)$

(a) the sample flows slowly; (b) the sample keeps still

从图 3(a)我们可以看出叶绿素 *a* 二聚体三重态 $T_1(A)$ 能级的粒子是无辐射弛豫到 $T_1(D)$ 能级(见图 2(b)), 实验测得其速率常数 $K_T^A = \frac{1}{\tau_T^A} = (1.02 \pm 0.05) \times 10^5 \text{s}^{-1}$ 。 $T_1(D)$ 能级的粒子弛豫到 S_0 基态, 实验测得的速率常数为 $K_{TG}^D = (1.25 \pm 0.06) \times 10^4 \text{s}^{-1}$, 由此可见 $T_1(D)$ 能级的粒子弛豫比 $T_1(A)$ 能级的粒子弛豫要缓慢得多。

参 考 文 献

- 1 G. R. Seely, R. G. Jensen, *Spectrochim. Acta*, **21**, 1835(1965)
- 2 T. M. Cotton, A. D. Trifunac *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, **368**, 181(1974)
- 3 L. L. Shipman, T. M. Cotton *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, 8222(1976)
- 4 N. E. Binnie, L. V. Haley *et al.*, *Can. J. Chem.*, **66**, 1728(1988)
- 5 J. Bauyher, J. O. Hindman *et al.*, *Chem. Phys. Lett.*, **63**, 159(1979)
- 6 John F. Shepanski, Robert W. Anderson Jr., *Chem. Phys. Lett.*, **78**, 165(1981)
- 7 S. S. Dvornikov, V. N. Knyuksho *et al.*, *J. Lumin.*, **18/19**, 49(1979)
- 8 For a review, See F. K. Fong, in *Light Reaction Path of Photosynthesis*, ed. by F. K. Fong, Springer, New York, 1982, Vol. 35 chap. 6
- 9 M. Hoshino, M. Imamura *et al.*, *Photochem. Photophys.*, **38**, 255(1983)
- 10 C. A. Parker, T. A. Joyce, *Photochem. Photophys.*, **6**, 395(1967)
- 11 A. J. Alfano, M. S. Showell *et al.*, *J. Chem. Phys.*, **82**, 76,5(1984)
- 12 K. N. Solover, S. S. Dvornikov *et al.*, *J. Appl. Spectrosc. (USSR)*, **38**, 87(1983)