

# 超快微光分子光谱探测技术研究\*

王水才 贺俊芳 彭菊芳 刘 晓 蔡 霞

(中国科学院西安光机所瞬态光学技术国家重点实验室, 西安 710068)

**摘 要** 按照超快极微弱分子吸收光谱学, 荧光光谱学, 时间分辨光谱学以及偏振荧光光谱学探测特性, 设计、集成组建了能够探测紫外-可见-红外快到飞秒时间分辨的单分子光学事件的激光瞬态光谱仪. 其光源有从 300 nm 到 3000 nm 连续可调的飞秒激光器、纳秒氩灯及连续氩灯. 光谱分辨率达 0.05 nm, 在泵浦探测差异吸收下有小于 150 fs 的时间分辨率. 谱仪能够实时给出光谱曲线及生物分子组分寿命. 利用该谱仪探测了 PS II CC, PS II RC 的能量传递动力学. 在 83 K 温度下 PS II CC 中的  $\beta$ -Car 分子接收 507 nm 光能, 以单步跃迁和随机转移的方式通过 Chl  $a_{637/638}^{641.5}$  分子传递光能到反应中心 Chl  $a_{680/681}^{683.2}$ , 平均传能时间为 77 ps, 有 59.94% 的组分用 355 ps 时间电荷重组. 在 PS II RC 中的  $\beta$ -Car 分子接收 507 nm 光能, 由 Chl  $a_{637/638}^{641.5}$  分子传递光能通过 Chl  $a_{675.5}^{678.2}$  到反应中心, 平均传能时间为 88.5 ps. 在 83 K 温度下, 反应中心复合物离子对  $[P680^+ \cdot pheo^-]$  平均再复合寿命为 19.35 ns.

**关键词** 超快微光分子光谱; 探测技术; PS II CC; PS II RC; 激发能传递动力学

**中图分类号** Q631 **文献标识码** A

## 0 引言

超快分子光谱学是研究物理、化学和生命科学及其相关交叉前沿学科超快过程的有效手段, 也是研究分子光学、飞秒生物学、飞秒化学、超快纳米科学及一切超短激光与物质相互作用超快过程等领域的有力工具. 根据研究的学科内容来确定测量的特征参数, 像荧光动力学研究就需要探测瞬态荧光光谱、吸收光谱, 有时需要探测差异吸收光谱, 有的要进行荧光寿命测量; 在某些情况下, 极微弱探测需要单光子计数谱, 超快极微弱探测则需要时间相关单光子计数技术; 分析生物分子的大小、形状, 偏振荧光探测是一种有力的手段. 以上这些超快光谱学研究功能是本研究必须解决的关键技术, 还要进行稳态光谱学的研究. 研究生物大分子活性需要在低温下进行, 需要用谱仪全软件控制的液氮低温制冷系统和液氮低温制冷系统可在计算机控制下进行宽幅温度范围内自动扫描; 利用时间相关单光子计数技术检测传来的信息, 由内置 PC 兼容型高速处理卡、动态范围增强多道分析处理卡和基于 Windows 平台功能特强的系统控制及数据采集、分析、显示软件, 实时给出测量多组分样品中的各个组分的荧光寿命. 在进行分子光学超快现象的研究中, 经常需要不同激发能量, 不同频率的飞秒光脉冲, 设计瞬态光谱仪

能提供单脉冲能量在 800  $\mu$ J $\rightarrow$ 几个  $\mu$ J $\rightarrow$ 几个 nJ 量级, 光脉冲重复频率可选在 82 MHz, 1000 Hz $\rightarrow$ 几 Hz, 能提供方便的同步延时信号输出.

我们基于超快分子光学及国家 973 项目-光合作用高效光能转化机理研究, 在原有飞秒光谱仪<sup>[1,2]</sup>的基础上, 设计集成组建激光瞬态光谱仪, 以 FLS920 多功能光谱仪主体为基础, 匹配组建 S-FIK 再生放大器、OPA-800C 光学参量放大器、二次四次谐波倍频器、钛宝石飞秒振荡器, 插入可变光学延时同步信号引出单元, 全部采用半导体泵浦 Nd:YVO<sub>4</sub>、Nd:YLF 倍频激光器. 采用该激光瞬态光谱仪我们已经进行过光系统 II (PS II) 颗粒、核心复合物、捕光天线 (LHC II)、核心复合物 (PS II CP43、CP47、D1-D2-Cytb559) 及核心天线 CP43、CP47 的超快荧光动力学、激发能传递动力学研究. 由于谱仪组建了 R3809U-50MCP-PMT 超高速单光子探测器计数系统, 获得了更快更多的信息, 加之偏振荧光的探测, 在 300 nm 到 3000 nm 连续可调的飞秒光脉冲选择激励下, 进行谐振激发探测, 将更深刻的探测和揭发光合系统传能、转能的本质. 本文给出集成组建激光瞬态光谱仪的基本原理和运转特性, 及用该谱仪获得最新的 PS II CC、PS II RC 分子传能的实验结果.

## 1 激光瞬态光谱仪结构原理

图 1 是激光瞬态光谱仪方框原理结构, 主要部分的运转特性如下.

\*国家基础研究发展规划 (973) 资助项目 (编号: G1998010100)

Tel: 029-88484245 Email: wangshuicai@163.com

收稿日期: 2003-06-28

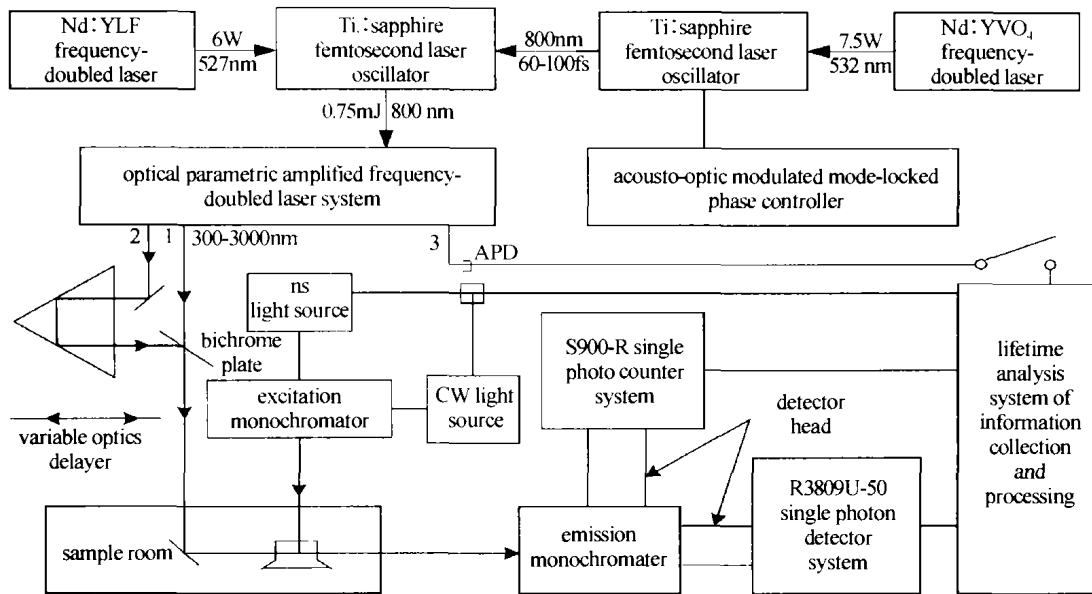


图1 激光瞬态光谱仪结构原理

Fig. 1 Setup principle of the laser transient spectrometer

### 1.1 从 300 nm 到 3000 nm 调谐飞秒光源

飞秒激光振荡器由二极管泵浦钕酸铷(Nd:YVO<sub>4</sub>) LBO 倍频产生的 532 nm、10 W 连续波激光泵浦,通常钛宝石飞秒激光振荡器处于主被动锁模状态,能产生 82 MHz 周期、调谐在 780 ~ 850 nm、脉宽 56 ~ 100 fs、平均功率 400 ~ 800 mW 的输出脉冲,用来泵浦再生放大器的钛宝石晶体.再生放大系统采用的是啁啾脉冲放大技术原理,从振荡器来的飞秒种子脉冲,经隔离器进入光栅展宽器,展宽为皮秒量级的低峰值功率脉冲,以便有效的放大和不损伤光学元件.由 YLF LBO 倍频激光器来的 Q 脉冲与拉宽的种子脉冲同步注入钛宝石晶体,这是一种腔倒空再生放大器,经八九次来回放大,被普克尔盒控制倒出腔外,进入光栅压缩器压缩成为 130 fs 宽,0.8 mJ 的光脉冲,提供光学参量放大器用.该再生放大器出来的 130 fs 宽、0.8 mJ 能量、1000 次/秒的光脉冲也可独立应用.

光学参量放大器采用的是 BBO 晶体,红外波长的扩展是通过钛宝石晶体产生的连续白光和行波光参量放大实现的.由啁啾脉冲钛宝石再生放大系统来的 800 nm 波长光脉冲,用光束分束器分出部分光,经  $\lambda/2$  波长片和偏振器,聚焦进钛宝石晶体中,通过自相位调制(SPM)、多光子吸收、等离子效应、四波混频和交叉相位调制等非线性效应产生白光脉冲.光学参量放大器等效于一个啁啾脉冲放大器,本设备有预放和功放两级.当 BBO 晶体用频率  $\omega_p$  泵浦时,就引起“信号光” $\omega_s$  和“空闲光” $\omega_i$  同时产生,就是说,将泵浦光的功率转换为信号光和空闲光的功率.如果  $k_p = k_s + k_i$ ,则能量全部转换;如果  $|k_p - k_s - k_i| = \Delta k$ ,则产生相位失配,出现二阶、三

阶和高阶群速弥散.在飞秒光参量放大器中, $\Delta k$  显著地降低了信号光与空闲光的增益,只有  $\Delta k$  变化微小、增益带宽内的光谱成分才得到放大.采用白光脉冲作为光参量放大器的种子脉冲,用一块 BBO 晶体实现两级参量放大,增益带宽不是由晶体的发射谱决定,而是由相位失配确定,只有在  $\Delta\omega_s = -\Delta\omega_i$  时,放大后的空闲光谱宽度才与信号光的相同,才能同时得到两个不同波长的飞秒光脉冲.输出波长是通过角调谐 BBO 晶体实现的.用分束器分出几十 mW 的 800 nm 红光与白光种子脉冲同步匹配进入 BBO 晶体,进行光参量第一级预放,通过聚焦并反射回来再与其余 700 mW 的再生放大器出来的 800 nm、130 fs、1 kHz 的光脉冲同步进入 BBO 晶体,进行第二级光参量功率放大,将信号光与空闲光分别放大到  $\sim 75 \mu\text{J}$  和  $35 \mu\text{J}$  的单脉冲能量,通过角度调谐 BBO 晶体,得到空闲光从 1.6 ~ 3.0  $\mu\text{m}$ 、信号光从 1.1 ~ 1.6  $\mu\text{m}$  的调谐范围.随后再经过 BBO 二次及四次倍频,得到信号光从 550 ~ 800 nm 及 300 ~ 400 nm;空闲光从 800 ~ 3000 nm 及 400 ~ 600 nm,均为  $\mu\text{J}$  量级的光脉冲,有六个输出窗口.

### 1.2 ns 光源和 CW 光源

谱仪附有脉冲 ns 放电闪光氢灯和稳态氙灯两种光源.氢灯脉宽 1 ~ 1.8 ns,单脉冲强度在  $\sim 10^{10}$  光子/脉冲,光谱范围在 220 ~ 800 nm 之间,重复频率为 50 kHz.氙灯光谱处于 200 nm 到 900 nm 之间,稳定在 0.2%.这两种光源都可以通过激发单色仪获得单色光,用于激励样品.

### 1.3 飞秒时间分辨泵浦-探测差异吸收光谱学

光学参量放大倍频激光系统可以同时输出信号光、空闲光、二倍频、四倍频及基频光,因此可以给出

泵浦光及不同于泵浦波长的探测光. 如果用输出 1 光泵浦样品, 用 2 光经可变光学延时器后探测 1 光被样品吸收的情况, 就可得到差异吸收谱. 在此种情况下, 瞬态光谱仪有  $< 150$  fs 的时间分辨率. 可变光学延时器用步进电机带动, 每步  $0.9^\circ$ , 行程 100 mm, 速度 20 mm/s, 在分辨率为 0.00125 mm 下, 有精度 7.5 fs/步. 由光学参量放大倍频激光系统还引出 3 光, 用来由雪崩光电二极管 (APD) 进行快速光电转换, 以便进行光同步探测信号. 这样有效地改进了激光瞬态光谱仪的超快速时间分辨率的性能.

#### 1.4 单光子光电倍增管探测与信息收集分析系统

光电倍增管探测系统是专门设计运转在计数模式状态下, 采用 R955 及 R3809U-50MCP-PMT 管型, 有低温制冷装置, 直接在时域内探测原始数据, 测得多组分样品中各个组分的荧光寿命常数. 单光子计数系统有  $10^7$  增益, 在 200 nm 到 850 nm 波段有高的灵敏度; 超快速道平均电流增益达  $2.5 \times 10^5$ , 有大约 6000:1 的信噪比. 由测量得到的样品响应函数, 仪器响应函数及样品的衰减模式, 结合指数因子、特征寿命及附加背景, 在解卷积之后, 进行多指数拟合实时显示曲线, 并给出多组分寿命的结果. 但是按照光合作用, 能量传递组分不但与光能传递机理有关, 而且也与色素分子空间构型、功能关系有关. 光能传递是通过给体激发态电子向受体基态电子进行的, 而电子的出现是用在空间某一点出现的几率描述的, 因此处理数据必须引入几率的概念, 测量荧光衰落曲线都是在某波长  $\lambda$  之下一段连续时间  $t$  内进行的, 而获得多个波长  $\sum_{j=1}^n \lambda_j$  的荧光衰落谱, 就需要几段连续时间. 目前, 这个谱仪还做不到在几率概念情况下, 寿命组分是时间  $t$  和波长  $\lambda$  的函数关系, 我们正在改进数据拟合处理方法, 以便得到唯一的结果.

## 2 PS II 超快分子光谱学激发能传递研究

我们利用该瞬态光谱仪研究了光合作用光系统 II (PS II) 核心复合物中色素分子激发能传递超快光谱学, 获得了一些最新的实验结果. PS II 核心复合物由核心天线 CP43 和 CP47、反应中心 D1-D2-Cytb559 组成. 高等植物在光合作用中, 由捕光天线 LHC II 中色素分子吸收太阳能, 通过核心天线 CP43 和 CP47 分别传递到反应中心 D1-D2-Cytb559<sup>[3]</sup>, 在那里进行传能、转能的光能转换, 把太阳能变成了植物的内能. CP43 和 CP47 都只含叶绿素 *a* (Chl *a*) 和

$\beta$ -胡萝卜素 ( $\beta$ -Car) 分子, 各自分别键接了近 20 ~ 21 个 Chl *a* 分子和 4-5 个  $\beta$ -Car 分子. 反应中心有细胞色素 b559 和蛋白 D1 及蛋白 D2, 多肽 D1 和 D2 分别是由 psbA 和 psbD 基因编码的 38.0 KD 和 39.4 KD 多肽色素蛋白复合物; 反应中心含有 6 个 Chl *a* 分子, 2 个  $\beta$ -Car 分子和 2 个脱镁叶绿素 *a* (p<sub>heo a</sub>) 分子. 原初受体 p<sub>heo</sub>、QA、QB 和铁原子构成反应中心的电子传递链, 由 33、23 及 17 KD 三种外周多肽以及与放氧有关的锰族、氯及钙离子组成的水氧化放氧系统.

#### 2.1 材料和方法

采用中科院植物所光合作用研究中心从菠菜中提纯的 PS II 核心复合物等样品, 提纯的样品放在液氮中保存其活性. 激光瞬态光谱仪置于 BBO 四次谐波 300 nm ~ 600 nm 谱段, 其单脉冲能量约 0.8  $\mu$ J, 重复频率 1000 Hz, 应用 R3809U-50 单光子探测器系统, 进行选择激发样品检测. 另外还利用单光子计数系统进行稳态谱测量, 由 F900 寿命分析.

#### 2.2 荧光动力学实验结果

采用持续期为 100 fs、波长为 507 nm、能量为 0.7  $\mu$ J 的激光脉冲, 在 83 K 温度下激发浓度在 30  $\mu$ g/ml 左右的 PS II 核心复合物 (CC) 及 PS II 反应中心 (RC) 复合物. 对 PS II CC 获得图 2 的 CC 荧光谱及图 3 的 683 nm 波长下的 CC 荧光衰减曲线. 对 CC 荧光谱积分曲线进行高斯解析获得表 1 的解析谱参数. 对 CC 的荧光衰减曲线进行多指数拟合获得的时间常数拟合数据见表 2. 对 PS II RC 测量

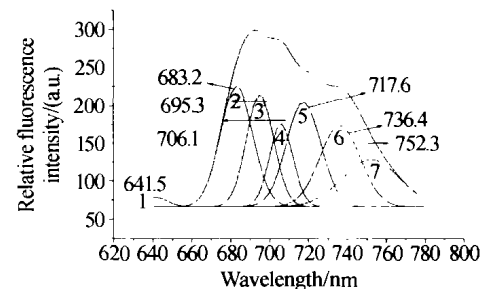


图 2 PS II CC 的荧光光谱

Fig. 2 The fluorescence spectrum of PS II CC

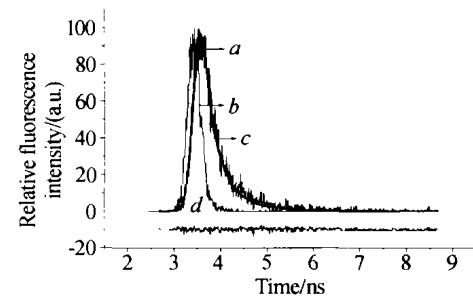


图 3 683 nm 波长下 PS II CC 的荧光衰减曲线

Fig. 3 The fluorescence decay curve of PS II CC at 683 nm

获得的 RC 荧光光谱见图 4, 在 680 nm 波长下的 RC 荧光衰减曲线见图 5, 其 RC 荧光光谱高斯解析谱见表 3, 其 RC 荧光衰减曲线时间常数拟合数据见表 4.

表 1 CC 荧光光谱的高斯解析谱参量

序号	峰值波长 /nm	半高全宽 /nm	积分面积	相对强度/(%)
1	641.5	12.105	190.17	1.70
2	683.2	16.647	3326	21.4
3	695.3	14.007	2606.5	20.0
4	706.1	11.936	1643.2	14.8
5	717.6	17.636	3063.4	18.8
6	736.4	20.657	2799.7	14.6
7	752.3	29.421	2309.1	8.50

表 2 CC 荧光衰减曲线时间常数拟合数据

	组分 1	组分 2	组分 3
时间	73-81.2ps	347-362.7ps	1.88-2.6ns
所占比例	31.92%	59.94%	8.14%

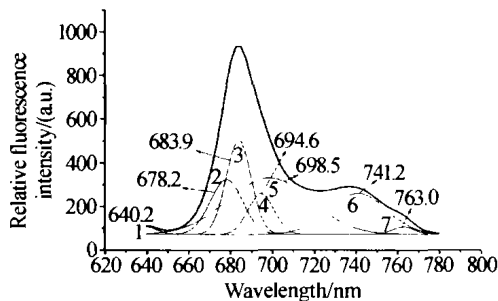
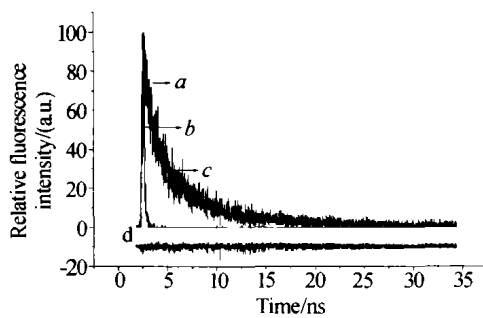


图 4 RC 的荧光光谱

Fig. 4 The fluorescence spectrum of RC



a. fluorescence decay curve; b. system responding function curve; c. four-exponential fitting curve; d. fitting residual curve

图 5 680nm 波长下 RC 的荧光衰减曲线

Fig. 5 The fluorescence decay curve of RC at 680nm

表 3 RC 荧光光谱的高斯解析谱参量

序号	峰值波长 /nm	半高全宽 /nm	积分面积	相对强度/%
1	640.2	9.9559	446.26	2.60
2	678.2	15.395	4920.9	18.2
3	683.9	11.865	6499.0	31.2
4	694.6	12.306	2922.8	13.6
5	698.5	39.739	12936	18.6
6	741.2	27.428	6493.2	13.5
7	763.0	10.697	463.0	2.50

表 4 RC 荧光衰减曲线时间常数拟合数据

	时间	所占比例
组分 1	19.19-19.5ns	19.1%
组分 2	2.57-3.58ns	69.73%
组分 3	72-105.2ps	1.55%
组分 4	398-517.3ps	9.62%

### 2.3 结果讨论

采用 100 fs、507 nm 光在 83 K 温度下激励 PS II CC 样品, 核心天线中的  $\beta$ -Car 分子首先被激发到  $1^1\text{Bu}(S_2)$  能级, 如果相邻是  $\beta$ -Car 分子, 且靠的很近有电子云重叠时, 只能按 Dexter 电子交换机制传能. 又由于受激  $\beta$ -Car 分子的发射谱与 Chl *a* 分子的吸收谱重叠很少,  $1^1\text{Bu}$  态寿命很短, 最低单线态  $2^1\text{Ag}$  是光学禁止的,  $\beta$ -Car 向 Chl *a* 分子只能是 Dexter 电子交换机制, 最终由 Chl *a* 分子将能量传递到反应中心. 由于 Cp43 和 Cp47 均只含  $\beta$ -Car 和 Chl *a* 分子,  $\beta$ -Car 的激发能以无辐射跃迁的形式通过  $\beta$ -Car 或 Chl *a* 分子传递到 Chl *a* 分子较强的吸收带 634 ~ 640 nm 中, 出现 641.5 nm 发射峰, 继续由 Chl *a* 分子传递到反应中心 P680, 出现特征分子 Chl  $a_{680/681}^{683.2}$  (Chl  $a_a^e$ , *e* 为荧光峰值, *a* 为吸收峰值). 从  $\beta$ -Car 分子接收到光能, 以单步跃迁和随机转移传能方式用了 77 ps 时间, 将能量传递到反应中心 P680, 这正好与我们在 PS II 核心复合物中理论计算的  $\beta$ -Car 分子传递激发能到反应中心 P680 用了 81 ps 时间相一致<sup>[4]</sup>. 反应中心 D1 和 D2 蛋白之间的两个 Chl *a* 分子为活性 P680, P680 也是一个发色团, 其吸收能量处于激发态 P680\* 后, 大约用了 3 ~ 21 ps 时间进行电荷分离 [P680\* · Pheoa<sup>-</sup>]<sup>[5-7]</sup>, 剩余能用平均 355 ps 的时间电荷重组 [P680\* · Pheoa], 当重组后的 Chl<sub>680</sub>\* 处于较高激发态, 有可能再进行电荷分离. 在 700 nm 到 780 nm 范围的荧光谱带中, 有 706.1、717.6、736.4 和 752.3 nm 四个峰值, 说明在核心复合物长波段含有至少四个特征 Chl *a* 分子, 它们以平均寿命 2.24 ns 时间返回到基态. 从我们对 Cp43 和 Cp47 荧光光谱特征研究<sup>[8]</sup> 得知, 这四个荧光发射峰很可能是 Cp43 核心天线 Chl *a* 分子发射的.

采用 100 fs、507 nm 光在 83 K 温度下激励 PS II RC 样品, 反应中心  $\beta$ -Car 首先被激发到高能态, 通过 Chl *a* 分子传递光能到 Chl  $a_{637/638}^{640.2}$  特征分子, 损耗 2.6% 的荧光, 随后再将能量传递到反应中心 Chl *a* 和 Pheoa 分子的最大吸收峰 675.5 nm 处. 出现 Chl<sub>675.5</sub><sup>678.2</sup> 的吸收发射峰, 继续将能量传递到 P680.

由解析谱、时间拟合曲线得出,从  $\beta$ -Car 分子接收能量,通过 Chl  $a_{675.2}^{678.2}$  分子,传递光能到 P680,共用去 88.5 ps 时间. 通过特征 Chl  $a_{675.5}^{678.2}$  分子的能量传递给蛋白 D1 和 D2 之间的活性 Chl  $a$  分子 P680,形成激发态  $P680^*$ ,仅用了 3~21 ps 时间将电子传递给 Pheoa 分离电荷,形成离子对  $[P680^+ \cdot Pheoa^-]$ . 还有剩余的能量传递到 Chl  $a_{681.0}^{683.9}$  分子,其荧光强度达到 31.2%. 在 680 nm 处测试的 RC 荧光衰减曲线,其最大峰值位于 680 nm 到 684 nm 之间,实际上 P680 分子是一个发色团,在拟合得到的平均寿命 19.35 ns, 3.07 ns, 88.5 ps 和 457.5 ps 中的最长寿命反映了离子对  $[P680^+ \cdot Pheoa^-]$  的再复合过程<sup>[9,10]</sup>,所以,在 83 K 温度下,反应中心复合物离子对  $[P680^+ \cdot Pheoa^-]$  再复合最大寿命为 19.35 ns. 电荷分离后,把光能变成化学能,往往用实验手段激发色素分子,传递到 P680 的光能不能完全被吸收,Chl  $a_{683}$  的光能继续传递,从表 4 中看到,还出现发射荧光峰 694.6 nm, 698.5 nm, 741.2 nm 及 763.0 nm, 占比例 69.73% 的组分寿命 3.07 ns 反映了 Chl  $a$  分子发射宽谱带荧光回到基态的过程. 按照  $P680^*$  和  $[P680^+ \cdot Pheoa^-]$  态之间的自由能差异动力学,  $P680^*$  呈现出双指数荧光衰减组分,拟合出的相应荧光组分反映了电荷分离和电荷重组过程. 认为 457.5 ps 反映了新形成的  $P680^*$  返回到反应中心非活性 Chl  $a$  分子的能量传递过程.

应用 100 fs, 420 nm 光激励 PS II RC 样品. 经过解析荧光谱,拟合荧光衰减曲线,结合吸收谱,得到了由 Chl  $a$  分子吸收光能,通过 Chl  $a_{678}$  传递光能到反应中心 P680 的传能时间为 12 ps.

根据以上 PS II CC、PS II RC 实验研究及理论分析结果,给出了图 6 的激发能传递动力学模型.

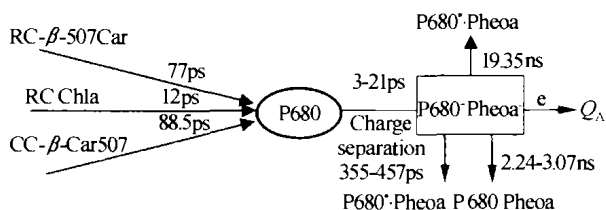


图 6 PS II CC. RC 激发能传递动力学模型

Fig. 6 Dynamical model of excitation energy transfer in the PS II CC. RC

### 3 结论

按照极微弱超快分子光谱学的研究要求,我们研究、集成组建了能够进行分子吸收光谱,发射光谱,时间分辨光谱以及偏振荧光光谱探测的激光瞬态光谱仪,能够测量光谱范围在 300 nm 到 3000 nm 之间,对从紫外-可见-红外光谱都有小于 150 fs 的时间分辨率,对单光子超快光学事件探测极为有效.

光谱仪集成有激发单色仪和发射单色仪,获得的光谱分辨率为 0.05 nm,能够实时给出光谱曲线及生物分子组分寿命处理结果. 利用该激光瞬态光谱仪我们成功地研究了 PS II CC 和 PS II RC 样品的激发能传递特性:对 PS II RC,用 507 nm 激励光,在 83 K 温度下, $\beta$ -Car 分子接收能量,通过 Chl  $a_{637/638}^{641.5}$  分子到反应中心 Chl  $a_{680/681}^{683.2}$ ,平均传能时间为 77 ps. 这是一种单步传递和随机转移相结合的能量传递方式. 占 59.94% 组分寿命 355 ps 可归结于电荷重组时间,平均寿命 2.24 ns 是特征 Chl  $a_{690.5}^{695.5}$  分子发射荧光回到基态的时间. 在同样条件下,在 680 nm 处测量 PS II RC,获得四组寿命常数,从  $\beta$ -Car 分子吸收 507 nm 光能,通过 Chl  $a_{637/638}^{641.5}$  分子,到达 Chl  $a_{675.5}^{678.2}$  分子强吸收发射峰处,平均传能时间为 88.5 ps. 光能继续由 Chl  $a_{675.5}^{678.2}$  到反应中心活性分子 Chl  $a_{680}$ ,将 P680 激发到  $P680^*$ ,进行电荷分离,离子对  $[P680^+ \cdot Pheoa^-]$  出现再复合过程,19.35 ns 反映了在 83 K 温度下反应中心复合物离子对平均复合寿命. 平均寿命 457.5 ps 反映了电荷再复合过程. 从解析光谱中看到的四个较长波长的发射峰 694.6, 698.5, 741.2 及 763.0 nm,占了荧光总比例 69.73%,平均寿命 3.07 ns 反映了这些 Chl  $a$  发射宽谱带荧光返回到基态的过程.

### 参考文献

- 1 Wang S C, Ye T, Cui V, *et al.* Investigation of the energy transfer and electronic excitation transport in photosystem II reaction center using time-resolved fluorescence spectroscopy, ultrafast phenomena, 1994, 76/DH121, 77/12-Z
- 2 贺俊芳,王水才,杨鸿儒. 飞秒差异吸收微弱信号探测技术. 光子学报,1999,28(10):888~891  
He J F, Wang S C, Yang H R. *Acta Photonica Sinica*, 1999, 28(10):888~891
- 3 王水才,贺俊芳,张舒,等. PS II 高效传能超快微观机理研究. 光子学报,2000,29(21):121~133  
Wang S C, He J F, Zhang S, *et al.* *Acta Photonica Sinica*, 2000, 29(21):121~133
- 4 王水才,蔡霞,贺俊芳,等. 从核心天线到反应中心分子传能研究. 光子学报,2003,23(7):848~852  
Wang S C, Cai X, He J F, *et al.* *Acta Photonica Sinica*, 2003, 23(7):848~852
- 5 Wasielewski M R, Johnson D G, Seibert M G. Determination of the primary charge separation rate in isolated photosystem II reaction center with 500 fs time resolution. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1989, 86, 524~528
- 6 Hasting G, Durrant J R, Barber J, *et al.* Observation of pheophytin reduction in photosystem two reaction centers using femtosecond transient absorption

- spectroscopy. *Biochemistry*, 1992, **31**:7638 ~ 7647
- 7 侯建敏, 匡廷云, 陈耀东, 等. 用 420 fs 时间分辨率荧光光谱法研究光系统 II 反应中心原初反应的动力学特性. *植物学报*, 1998, **40**(8):715 ~ 720  
Hou J M, Kuang T Y, Chen Y D, *Acta Botanica Sinica*, 1998, **40**(8):715 ~ 720
- 8 贺俊芳, 王水才, 张舒, 等. PS II 的荧光光谱特性. *光子学报*, 2001, **30**(3):257 ~ 261  
He J F, Wang S C, Zhang S, *et al. Acta Photonica Sinica*, 2001, **30**(3):257 ~ 261
- 9 Roelofs T A, Stefan L S, *et al.* Primary processes and structure of the photosystem II reaction center: Low-temperature picosecond fluorescence kinetics of a D1-D2-cytb559 reaction center complex isolated by short Triton exposure. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1993, **1143**:147 ~ 157
- 10 Roelofs T A, Gilbert M, Shuralov V A, *et al.* Picosecond fluorescence kinetics of the D1-D2-cytb559 photosystem II reaction center complex. Energy transfer and primary charge separation processes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1991, **1060**:273 ~ 244

## Studies on Detection Technique of Ultrafast Glimmer Molecule Spectra

Wang Shuicai, He Junfang, Peng Jufang, Liu Xiao, Cai Xia

State Key Laboratory of Transient Optics and Technology, Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics,  
Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710068

Received date: 2003-06-28

**Abstract** According to detection characteristics of ultrafast glimmer molecule absorption spectroscopy, fluorescence spectroscopy, time-resolved spectroscopy and polarization fluorescence spectroscopy, the laser transient spectrometer has been perfectly assembled to detect the femtosecond time-resolved single molecule optics events from 300 nm to 3000 nm range. Spectrum resolution of the spectrometer is 0.05 nm, its time resolution is less than 150 fs in the pump-probe difference absorption. Energy transfer kinetics of PSII CC and PSII RC has been detected by this spectrometer. 507 nm light energy is absorbed by  $\beta$ -Car molecule in the PSII CC, and via Chl  $a_{637.638}^{641.5}$  molecule transfer excitation energy to reaction center Chl  $a_{680/681}^{683.2}$ , average transfer time is 77 ps, charge recombine time is 355 ps in the components of 59.94% at 83 K. 507 nm light energy is absorbed by  $\beta$ -Car molecule in the PSII RC, and via Chl  $a_{637.638}^{641.5}$  molecule transfer to Chl  $a_{675.5}^{678.2}$ , average transfer time is 88.5 ps, average recombination lifetime in the reaction center radical-pair [P680<sup>+</sup> pheo<sup>-</sup>] is 19.35 ns at 83 K.

**Keywords** Ultrafast glimmer molecule spectra; Detection technique; PSII CC; PSII RC, Dynamics of excitation energy transfer



**Wang Shuicai** graduated from University of Science and Technology of China in 1963. His research interests are the fields of femosecond molecule biology, life optics and ultrafast processes of interaction between femosecond laser and organism molecules.