

А. СУИСАЛУ, Р. АВАРМАА

УВЕЛИЧЕНИЕ ЭФФЕКТА ФДМР В МОЛЕКУЛАХ ХЛОРОФИЛЛА ПРИ ИНТЕНСИВНОМ ЛАЗЕРНОМ ВОЗБУЖДЕНИИ

A. SUISALU, R. AVARMAA. FDMR-EFEKTI KASV KLOOROFÜLLI MOLEKULIDES INTENSIIVSE
LASERERGASTUSE KORRAL

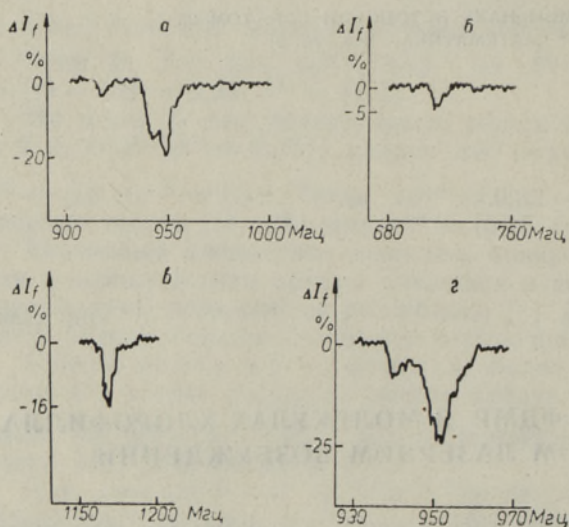
A. SUISALU, R. AVARMAA. ENHANCEMENT OF THE FDMR EFFECT IN CHLOROPHYLL
MOLECULES UNDER HIGH-INTENSITY LASER EXCITATION

Для изучения молекулярных триплетных состояний наряду с известными методами оптического микроволнового резонанса успешно применяется техника флуоресцентного детектирования магнитных резонансов (ФДМР) в нулевом поле. Этот метод основывается на том, что индуцированное резонансным микроволновым полем изменение стационарной заселенности триплетного состояния приводит к изменению заселенности синглетных состояний, а следовательно, и интенсивности люминесценции. Метод ФДМР оказался весьма полезным при изучении нижнего триплетного состояния T_1 хлорофиллоподобных соединений [1,2], фосфоресценция которых очень слаба [3]. В последнее время техника ФДМР нашла применение при исследовании структуры и функционирования фотосинтезирующих систем [4].

Однако при обычном возбуждении, когда заселенность T_1 -состояния мала, применение метода ФДМР ограничивается его низкой чувствительностью — относительное изменение интенсивности флуоресценции ΔI_f обычно составляет лишь доли процента [1,4].

С другой стороны, в [5,6] было показано, что использование фокусированного лазерного возбуждения позволяет достигать в хлорофиллоподобных молекулах заселенности триплета около 50%. В настоящей работе сделана попытка показать эффективность такого возбуждения и в случае ФДМР.

Оптическое возбуждение хлорофилла *a* (Хл *a*) осуществлялось He-Ne (6328 Å) лазером, протохлорофилла (протоХл) — Cd (4416 Å) лазером, причем лазерный луч фокусировался на объект. Люминесценция регистрировалась спектрометром ДФС-24 и фотоумножителем ФЭУ-79 в режиме счета фотонов. Сигнал накапливался в многоканальный анализатор ЛР-4840. Источником микроволнового поля служил сверхвысокочастотный (СВЧ) генератор Г4-37А, имеющий выходную мощность до 1 Вт в режиме непрерывной генерации. Для сканирования частоты СВЧ-поля к ручке настройки был присоединен синхронный двигатель СД-54 с коробкой передач. Микроволновое возбуждение было реализовано с помощью спиральной замедляющей системы (диаметр



Спектры ФДМР при 4,2 К: а, б — хлорофилл а в эфире при возбуждении $\lambda_{ex} = 6328 \text{ \AA}$ и регистрации флуоресценции $\lambda_r = 6748 \text{ \AA}$. Скорость сканирования 0,25 (а) и 0,14 МГц/сек (б). Время накопления сигнала 4 сек/канал; в, г — протохлорофилл в эфире при $\lambda_{ex} = 4416 \text{ \AA}$ и $\lambda_r = 6250 \text{ \AA}$. Скорость сканирования 1,5 (в) и 0,25 МГц/сек (г). Время накопления сигнала 1 сек/канал. (Трехкратное сканирование.)

спирали 4 мм, шаг 0,4 мм). Для подвода микроволнового поля к объекту в гелиевом криостате использовалась коаксиальная линия из нержавеющей стали. Объекты находились непосредственно в жидком гелии.

В спектре ФДМР Хл а в эфире (рисунок, а, б) наблюдались два резонансных микроволновых перехода при 947 и 711 МГц с шириной линий 12 и 8 МГц и амплитудами сигнала ФДМР 20 и 5% соответственно. Согласно [1], из полученных частот были вычислены параметры расщепления триплетного состояния T_1 в нулевом поле: $|D| = 0,0276 \text{ см}^{-1}$, $|E| = 0,0039 \text{ см}^{-1}$. Эти величины близки к значениям, определенным для Хл а в матрице *n*-октана [1,2].

Для протоХл (рисунок, в, г) были впервые наблюдаемы два перехода при 1170 и 953 МГц с шириной линий 8 и 6 МГц и амплитудами сигнала ФДМР 16 и 25% соответственно.

Как для Хл а, так и для протоХл наблюдалось уменьшение интенсивности флуоресценции при сканировании частоты СВЧ-поля через обе резонансные частоты. Такой случай реализуется при условии, что невозмущенная заселенность долгоживущего подуровня триплета меньше, чем у связанного с ним через микроволновой резонанс более короткоживущего. Тогда при наложении микроволнового поля общая заселенность триплета начинает расти. Согласно [1], наблюдаемые СВЧ переходы для Хл а соединяют более короткоживущие подуровни (*x* и *y*) с самым долгоживущим (*z*-уровнем). Отсюда следует, что *z*-уровень имеет наименьшую стационарную заселенность. Установление такой же схемы для протоХл требует дополнительных измерений.

Как видно из рисунка, применение интенсивного лазерного возбуждения обеспечивает, во-первых, сигналы ФДМР до 20% и, во-вторых, позволяет выявить некоторые дополнительные детали: наличие слабого дополнительного пика около перехода 947 МГц и расщепление основного пика (которое в [1,2] не отмечалось). Дать однозначную интерпретацию этому расщеплению пока трудно. Не исключено, что оно связано существованием двух лежащих ниже S_1 -состояния триплетных состояний в молекуле Хл а. Такая гипотеза подтверждается наличием двух экспонент в кривых нарастания триплета Хл а при 77 К [5,6].

В случае Хл а спектры, приведенные на рисунке, были получены при регистрации флуоресценции на длине волны 6748 Å, соответствующей

щей одной из главных бесфоновых линий, возникающих при селективном лазерном возбуждении [7]. При регистрации на непрерывном фоне эффект оказался значительно слабее, а линии — менее резкими, что указывает на связь неоднородного уширения оптических спектров с уширением микроволновых резонансных линий. Аналогичная корреляция наблюдается у протоХл — неоднородное уширение спектра флуоресценции мало [8] и линия 953 Мгц весьма узкая (6 Мгц, см. рисунок, 2).

Итак, можно заключить, что использование мощного лазерного возбуждения, с одной стороны, и техники микроволновых резонансов — с другой, позволяет повысить эффективность исследования молекулярных триплетных состояний.

Авторы глубоко благодарны К. Ребане за полезные обсуждения и Э. Липпмаа за консультации по методике эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. Clarke, R. H., Hofeldt, R. H., J. Chem. Phys., **61**, 4582 (1974).
2. Clarke, R. H., Connors, R. E., Schaafsma, T. J., Kleibeuker, J. F., Platenkamp, R. J., J. Amer. Chem. Soc., **98**, 3674 (1976).
3. Красновский А. А., Лебедев Н. Н., Литвин Ф. Ф., Докл. АН СССР, **216**, 1406 (1974).
4. Hoff, A. J., Van der Waals, J. H., Biochim. Biophys. Acta, **423**, 615 (1976).
5. Авармаа, Р., Chem. Phys. Lett., **46**, 279 (1977).
6. Авармаа Р., Мауринг К., Изв. АН ЭССР. Физ. Матем., **26**, 92 (1977).
7. Авармаа, Р., Rebane, K., Studia Biophysica, **48**, 209 (1975).
8. Авармаа Р. А., Мауринг К. Х., ЖПС (в печати).

Институт физики
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
30/VI 1977