

УДК 541.141.1:535.343.32

Владимир ЧИРВОНЫЙ*, Эдуард ЗЕНЬКЕВИЧ*, Виктор ГАЛИЕВ-СКИЙ*, Роальдас ГАДОНАС**, Витаутас КРАСАУСКАС**, Альгис ПЯЛАКАУСКАС**

ДИНАМИКА РЕЛАКСАЦИОННЫХ ПРОЦЕССОВ В АГРЕГАТАХ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ ПРИ ПИКОСЕКУНДНОМ ЛАЗЕРНОМ ВОЗБУЖДЕНИИ

(Представил К. К. Ребане)

Методами абсорбционной пикосекундной спектроскопии ($t_{1/2}=20$ пс) исследованы упорядоченные полимерные ($n=100-300$ мономеров) агрегаты фотосинтетических пигментов (хлорофилл *a*, протохлорофилл *a*, феофитин *a*) в бинарных смесях растворителей при 293 К. Установлено, что в таких системах миграция энергии электронного возбуждения происходит в ходе колебательной релаксации возбужденных S_1 -состояний (случай локализованного экситона), а в условиях мощного пикосекундного возбуждения приводит к сокращению τ_s -агрегатов до значений, существенно меньших временного разрешения установки. Наблюдаемые спектральные изменения в области Q -полос поглощения, имеющие сложную двухфазную кинетику ($\tau_1 < 20$ пс и $\tau_2 = 660 \pm 50$ пс) и линейную зависимость от $I_{\text{возб.}}$, связываются с быстрыми коллективными процессами диссипации избытка колебательной энергии внутри агрегированного комплекса и в окружающую среду в состоянии S_0 , возникающего в результате эффективной $S_1 + S_1$ -аннигиляции и сопровождающегося обратимой структурной перестройкой агрегатов пигментов.

Разные примеры реальных и потенциальных применений высококонцентрированных гомо- и гетерогенных структурно-организационных молекулярных систем свидетельствуют о необходимости детального исследования фотофизики такого рода объектов с привлечением стационарных и импульсных методов. К таким системам, называемым малыми коллективами, относят и различные типы агрегатов органических молекул, в том числе и ассоциаты фотосинтетических пигментов, изучение которых не только представляет самостоятельный интерес, но и является важным звеном в исследовании первичных фотопроцессов *in vivo* [1]. Применение методов абсорбционной пикосекундной спектроскопии для изучения релаксационных процессов в реальном масштабе времени в малых коллективах требует достаточно мощного лазерного возбуждения. Соответственно, в условиях сильных межмолекулярных взаимодействий в таких системах наряду с известными аннигиляционными процессами возможно проявление и других эффектов, приводящих к быстрым обратимым спектральным изменениям, которые не связаны с процессами релаксации собственно возбужденных состояний. Например, локальный разогрев и последующее охлаждение в пикосекундном интервале времен предполагаются при импульсном возбуждении гембелков [2], что следует учитывать при анализе спектрально-кинетических характеристик структур данного типа. Выяснению экспериментальных особенностей проявления такого рода эффектов и посвящена настоящая работа, в которой исследованы упорядоченные полимерные агрегаты фотосинтетических пигментов (хлорофилл *a* — ХЛ, протохлорофилл *a* — ПХЛ и феофитин *a* — ФЕО) в бинарных смесях растворителей в условиях возбуждения пикосекундными лазерными импульсами.

* Институт физики АН БССР, 220602 Минск, Ленинский пр. 70, БССР.

** Вильнюсский университет, 232054 Вильнюс, Саулетеке алл. 9, корп. 3, Литва.

Ранее мы показали [3-7], что в бинарных смесях растворителей (вода — диоксан, вода — морфолин для ХЛ и ПХЛ, вода — этанол, вода — диоксан для ФЕО) возможна стабилизация индивидуальных и смешанных полимерных агрегатов пигментов, содержащих от 100 до 300 мономеров, имеющих упорядоченную структуру с димерной элементарной ячейкой и энергией диполь-дипольных взаимодействий $V_{12} \approx 40 - 120 \text{ см}^{-1}$. В качестве примера спектральные параметры таких агрегатов приведены на рис. 1. Квантовые выходы флуоресценции агрегированных комплексов в данных условиях при 293 К лежат в диапазоне $B = (0,3 - 1,5) \cdot 10^{-3}$, а соответствующие оценки с использованием интегралов Кравца показывают, что в условиях маломощного стационарного возбуждения ($\leq 10^3$ фотонов/с на агрегат) времена жизни синглетных возбужденных S_1 -состояний агрегатов составляют $\tau_S \approx 100 - 200 \text{ пс}$.

Вместе с тем, несмотря на столь короткие времена жизни возбужденных состояний агрегированных комплексов, сильные диполь-дипольные взаимодействия обеспечивают высокие скорости миграции энергии по системе связанных центров. Так, на основании экспериментальных данных [3, 8] и теоретических расчетов, в рамках модели индуктивно-резонансного переноса [9] время парного прыжка возбуждения в агрегатах по синглетным уровням может достигать значений $t_j \approx 5 - 0,1 \text{ пс}$, сравнимых с временами внутримолекулярной колебательной релаксации [10]. В этом случае может быть существенной передача энергии с участием «горячих» нерелаксированных состояний, что, вообще го-

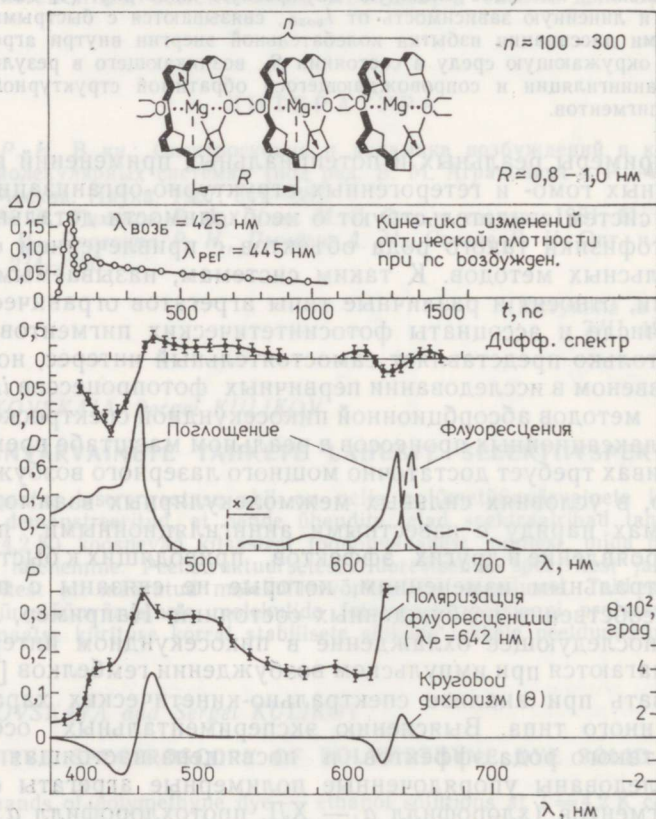


Рис. 1. Спектрально-кинетические параметры агрегатов хлорофилла (сверху вниз): структурная формула; кинетика изменений оптической плотности; дифференциальный спектр при пикосекундном возбуждении; спектры поглощения и флуоресценции; спектры поляризации флуоресценции; спектры кругового дихроизма.

вора, требует другой модели описания процесса миграции энергии. Остановимся на этом более подробно, поскольку, на основании данных по энергетике пигмент-пигментных взаимодействий в рассматриваемых агрегатах и в соответствии с выводами теории Хижнякова—Техвер [11, 12], ситуация, характерная для исследуемых упорядоченных агрегатов ХЛ и его аналогов, как раз может быть отнесена к случаю некогерентной горячей миграции в условиях сильной электрон-фононной связи при отсутствии динамической корреляции между взаимодействующими центрами. Параметры, описывающие в соответствии с теорией [11, 12] перенос возбуждения в ходе колебательной релаксации для изучаемых агрегатов пигментов (таблица) показывают, что действительно, горячий перенос за времена 0,06—7 пс может играть существенную роль в динамике релаксационных процессов в агрегатах.

Как показывают расчеты [12], если взаимодействие центров достаточно велико, а индивидуальные свойства донора и акцептора не нарушаются, то в многоцентровых системах может иметь место некогерентная горячая миграция, т. е. возрастает роль горячего переноса в миграции экситона. Такая ситуация не исключена для олигомерных комплексов пигментов, так как полуширина Q -полос поглощения пигментов в составе агрегатов $\sigma = 470\text{—}410\text{ см}^{-1} > V_{12}$ (см. таблицу). Теория предсказывает также [12], что некогерентная горячая миграция должна приводить к возрастанию эффективности переноса с нетермализованных возбужденных состояний и увеличению радиуса миграции локализованных экситонов. Оценки, приведенные в таблице, свидетельствуют о том, что времена горячей миграции в ассоциатах пигментов на 1—2 порядка больше времен парного горячего переноса ($t_M \simeq 10^{-11}\text{—}10^{-12}\text{ с}$), и радиус миграции может достигать значений $\bar{R}_M \simeq 20\text{—}24$ нм. Таким образом, единичное возбуждение в агрегате способно в ходе колебательной релаксации S_1 -состояний посетить все взаимодействующие центры ансамбля. С существованием миграции энергии в ходе колебательной релаксации в агрегатах ПХЛ, ХЛ и ФЕО, а также в смешанных комплексах можно связать следующие экспериментальные факты, обнаруженные нами ранее [8]: отсутствие квантовых потерь в процессах переноса от донора к акцептору, что характерно для горячего переноса [12]; зависимость эффективного захвата возбуждения донорной матрицы от вероятности дезактивации возбуждения непосредственно в акцепторе.

Итак, в ходе колебательной релаксации возбуждение охватывает большой ансамбль молекул, входящих в агрегат, и при мощном импульсном возбуждении быстрая миграция может привести к проявлению нелинейных эффектов, вызванных взаимодействием локализованных экситонов. При этом вполне очевидно, что из-за коротких времен жизни τ_S в рассматриваемых агрегатах исследование конкуренции внутримолекулярных и аннигиляционных каналов размена энергии электронного возбуждения оказывается возможным лишь с использованием методик пикосекундной спектроскопии. Для агрегатов ХЛ, ПХЛ и ФЕО пикосекундные абсорбционные (кинетические и спектральные) измерения были выполнены на автоматизированном спектрометре на базе перестраиваемых параметрических генераторов света и Nd^{3+} — ИАГ-лазера с пассивной синхронизацией мод в качестве источника накачки [13]. Возбуждение образцов в проточных кюветах осуществлялось импульсами длительностью $t_{1/2} \simeq 20$ пс при максимальной энергии $\sim 0,1$ мДж. Расчеты показывают, что используемые плотности мощности возбуждения (до 5 мДж/см² при $\lambda_{\text{возб.}} = 400\text{—}460$ нм) соответствуют $\sim 10^{16}$ фотонов/см² за вспышку и вполне достаточны для практически полного перевода в возбужденное состояние всего количества молекул пигмента в возбужденном объеме ($C_{\text{исх.}} = 2 \cdot 10^{-5}$ моль/л). В таких условиях

Параметры горячего переноса (ГП) и горячей миграции (ГМ) в агрегатах пигментов (теория Хижнякова—Техвер [11, 12])

Пигмент	R , нм	V , см ⁻¹	σ , с ⁻¹	$t_{гп}$, с	$\omega_{гп}$	$t_{гм}$, с	\bar{N}	\bar{R}_m , нм
Хлорофилл <i>a</i>	0,8—1,0	120—210	$1,2 \cdot 10^{13}$	$6 \cdot 10^{-14}$ — $2 \cdot 10^{-13}$	0,5—0,6	$(2-6) \cdot 10^{-12}$	750	24,0
Протохлорофилл <i>a</i>	0,8—1,0	20—70	$1,8 \cdot 10^{13}$	$6 \cdot 10^{-13}$ — $7 \cdot 10^{-12}$	0,05—0,2	$(0,1-2) \cdot 10^{-11}$	410	18,0
Феофитин <i>a</i>	0,8	100—180	$2,0 \cdot 10^{13}$	$8 \cdot 10^{-14}$ — $5 \cdot 10^{-13}$	0,3—0,6	$(4-8) \cdot 10^{-12}$	520	19,0

Примечание. $V = \frac{K|\vec{\mu}_1||\vec{\mu}_2|}{n^2 R^3}$ — энергия электронного диполь-дипольного взаимодействия ($K=1$).

Среднее время продольной, или энергетической, релаксации $t_0 \sim (1-0,5)\bar{\omega}^{-1} = 0,1-1$ пс.

Полуширина полосы поглощения $\sigma = c \cdot \Delta\nu_{1/2}$, c — скорость света.

Среднее время фазовой или поперечной, релаксации $t_c \sim (\sigma_1 + \sigma_2)^{-1} \leq 4 \cdot 10^{-14}$ с.

Безразмерная величина вероятности горячего переноса $\omega_{гп} \sim t_c \cdot t_0 (V/\bar{\hbar})^2$.

Общее время горячей миграции $t_{гм} \sim t_{гп} \cdot \sqrt{\bar{N}} \sim \sigma/\bar{\hbar} V^2$.

Радиус некогерентной горячей миграции $\bar{R}_m \sim R \sqrt{\bar{N}}$.

\bar{N} — число прыжков возбуждения в агрегате.

Характеристическое время некогерентного парного горячего переноса $t_{гп} \sim \bar{\hbar}^2/t_c V^2$.

каждый агрегат способен поглощать за вспышку до ~ 100 фотонов. Следовательно, если учесть, что $\tau_s \gg t_{1/2}$, в данном случае должны были бы наблюдаться значительные изменения оптической плотности образцов (ΔA), сравнимые с исходным поглощением агрегатов в основном состоянии, и, кроме того, аннигиляционные каналы дезактивации энергии возбуждения должны составить сильную конкуренцию внутримолекулярным каналам.

Выполненные нами исследования показали, что для агрегатов ХЛ, ПХЛ и ФЕО в условиях 20-пикосекундного возбуждения обнаруживаются общие характерные особенности в спектрах наведенного поглощения и в их кинетиках (см. рис. 1). Для исследованных агрегатов изменения величин ΔA сосредоточены практически в области полос поглощения $S_0 \rightarrow S_m$ (Q -полосы и B -полосы) и оказываются неожиданно малыми даже при возбуждении практически всех молекул в агрегате в течение импульса. Например, для агрегатов ХЛ максимальная величина просветления в максимуме Q -полосы составила $\Delta A = -0,14$, т. е. не более 10% оптической плотности исходной Q -полосы в ее максимуме. Как видно из рис. 1, кинетика наведенного поглощения имеет сложный характер, практически одинаковый для всех пигментов. Первая, короткая фаза кинетики релаксации близка по полуширине к кросс-корреляционной функции установки (20 пс). Затем вновь наблюдается увеличение сигнала $|\Delta A|$ с максимумом, задержанным относительно импульса возбуждения на ≈ 70 пс. После этого регистрируется второй, более медленный релаксационный процесс, который на временном отрезке 300—1500 пс аппроксимируется одной экспонентой с $\tau \approx 660 \pm 50$ пс. Такие кинетики наблюдаются как в поглощении, так и в просветлении, причем быстрая и медленная фазы имеют близкие друг к другу дифференциальные спектры поглощения (см. рис. 2).

Если учесть, что в рассматриваемых системах вероятность миграции локализованных экситонов составляет $F \approx 10^{12} - 10^{13} \text{ с}^{-1}$ [5, 8, 9], то в описываемых условиях подавляющее число квантов возбуждения, поглощаемых агрегатом за 20 пс со скоростью $5 \cdot 10^{12}$ фотонов/с, должно дезактивироваться по ходу возбуждения, т. е. короткую компоненту кинетики логично было бы связать с $S_1 + S_1$ -аннигиляцией. Известно [14], это эффективная $S_1 + S_1$ -аннигиляция приводит к уменьшению не

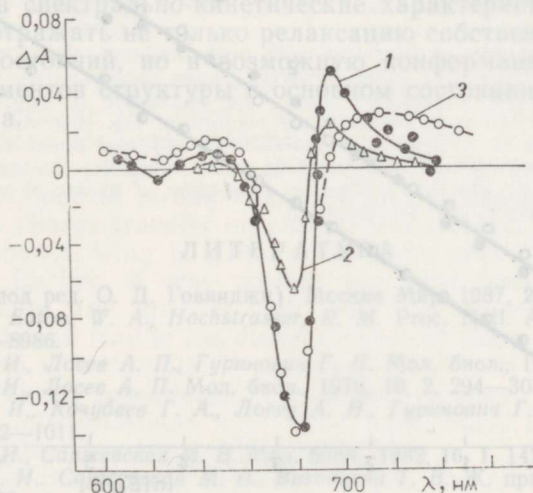


Рис. 2. Дифференциальные спектры поглощения агрегатов хлорофилла: через 10 пс (1) и через 70 пс (2) после возбуждения на длине волны 446 нм, а также после стационарного нагрева образца на 10°C (3; нормировано к максимуму спектра 1 на длине волны 680 нм).

только величин ΔA , но и τ_s , измеряемых в пикосекундных экспериментах. Однако эксперимент показал, что при уменьшении энергии возбуждающего импульса на порядок форма кинетик не зависит от его интенсивности. Кроме того, величины ΔA на любом участке кинетической кривой линейно зависят от энергии возбуждения E и не проявляют фазы насыщения при максимальных значениях E , когда обеспечивается перевод всех молекул в возбужденное состояние (см. рис. 3). Таким образом, быстрорелаксирующие абсорбционные изменения, наблюдаемые для всех агрегатов, прямо не отражают заселение и аннигиляционную дезактивацию возбужденных синглетных состояний агрегатов, а связаны с последующими релаксационными процессами иной природы. Эти изменения не обусловлены обратимой фотодеагрегацией пигментов [15], которая имеет миллисекундные релаксационные времена и другие спектральные особенности.

Наблюдаемые дифференциальные спектры не могут принадлежать к возможным триплетным состояниям агрегатов, поскольку спектры тетрапиррольных макроциклов и их агрегированных форм носят иной характер [16, 17].

Таким образом, совокупность экспериментальных данных и имеющих в литературе фактов исключает связь регистрируемых спектрально-кинетических параметров агрегатов при пикосекундном возбуждении с собственно характеристиками возбужденных электронных состояний рассматриваемых систем. На наш взгляд, наблюдаемые абсорбционные изменения отражают динамику релаксации избыточной тепловой энергии, образующейся вследствие аннигиляции электронных возбуждений. Действительно, нами обнаружены факты, указывающие на тепловой характер наблюдаемых процессов: аналогичные спектральные дифференциальные изменения регистрируются для агрегатов ХЛ, ПХЛ и ФЕО при стационарном нагревании растворов на $\Delta T = 10-20$ К относительно комнатной температуры (см. рис. 2). Сравнение абсолютных величин

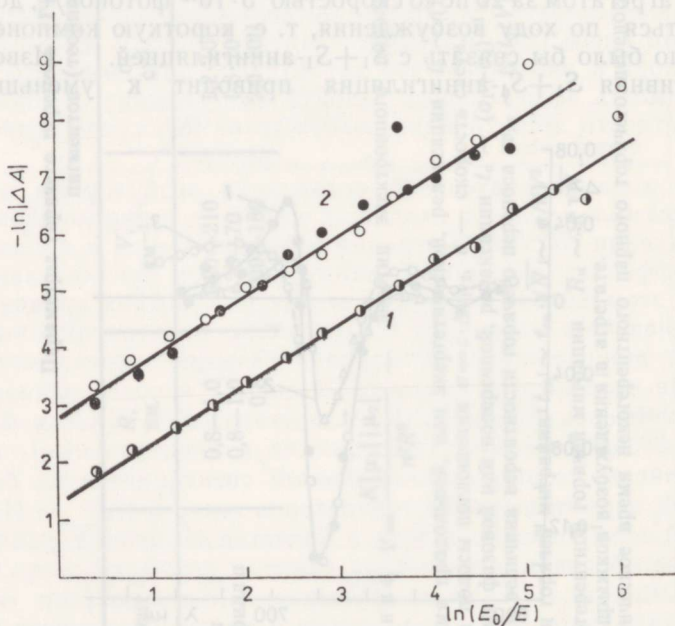


Рис. 3. Зависимость изменений оптической плотности раствора агрегата ФЕО ($\lambda_{\text{рег.}} = 695$ нм) от энергии возбуждения ($\lambda_{\text{возб.}} = 428$ нм) в логарифмическом масштабе при задержках зондирующего импульса 10 пс (1) и 500 пс (2; черные и белые кружки — две разные серии экспериментов).

стационарного и импульсного дифференциальных спектров показывает, что в условиях пикосекундного возбуждения локальный разогрев агрегатов в S_0 -состоянии происходит на $\Delta T = 25-40$ К. К значениям ΔT такого же порядка приводит и качественный расчет ожидаемого нагрева агрегата и его окружения при пикосекундном возбуждении, основанный на известных величинах размеров агрегатов, теплоемкости воды и подводимой энергии возбуждающего импульса. Предлагаемая модель согласуется с малыми величинами экспериментально измеряемых спектральных изменений $|\Delta A|$, поскольку они связаны с чувствительностью спектров поглощения агрегатов к изменению именно температуры, а не заселенности возбужденных электронных состояний. Кроме того, из данной модели вытекает и линейная зависимость величин $|\Delta A|$ от энергии возбуждения.

Итак, наблюдаемая спектрально-временная зависимость абсорбционных изменений для агрегатов ХЛ, ПХЛ и ФЕО в условиях мощного пикосекундного возбуждения отражает быстрые коллективные процессы диссипации локального избытка колебательной энергии внутри агрегированного комплекса и в окружающую среду в состоянии S_0 , возникающего в результате эффективной $S_1 + S_1$ -аннигиляции электронного возбуждения. Эти процессы сопровождаются быстрой структурной перестройкой агрегированных комплексов. Тот факт, что в области «провала» в регистрируемых кинетиках (задержка 70 пс после возбуждения) дифференциальный спектр имеет практически тот же вид, что и в других точках кинетики, дает основание интерпретировать этот «провал» как быстрое и обратимое частичное восстановление исходного спектра, т. е. как обратный «синий» сдвиг Q-полосы на фоне первоначального «красного» сдвига, возникшего в результате локального нагрева агрегата. В пользу такой интерпретации свидетельствуют полученные нами ранее данные [5, 8] о том, что, действительно, при разупорядочивании агрегатов данного типа происходит «синее» смещение Q-полос поглощения.

Разсмотренное проявление релаксационных диссипационных процессов в S_0 -состоянии следует иметь в виду при пикосекундных абсорбционных исследованиях пигментных структурно-организованных систем *in vivo* и *in vitro* с высокой локальной концентрацией взаимодействующих центров. Не исключено, что при больших мощностях возбуждающих импульсов спектрально-кинетические характеристики исследуемых систем могут отражать не только релаксацию собственно возбужденных электронных состояний, но и возможную конформационную динамику отдельных элементов структуры в основном состоянии в результате лазерного нагрева.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фотосинтез (под ред. О. Д. Говинджи). Москва Мир, 1987, 2.
2. Henry, E. R., Eaton, W. A., Hochstrasser, R. M. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1986, 83, 8982—8986.
3. Зенькевич Э. И., Лосев А. П., Гуринович Г. П. Мол. биол., 1975, 9, 4, 516—523.
4. Зенькевич Э. И., Лосев А. П. Мол. биол., 1976, 10, 2, 294—303.
5. Зенькевич Э. И., Кочубеев Г. А., Лосев А. П., Гуринович Г. П. Мол. биол. 1978, 12, 5, 1002—1011.
6. Зенькевич Э. И., Саржевская М. В. Мол. биол., 1982, 16, 1, 142—148.
7. Зенькевич Э. И., Саржевская М. В., Витовцева Т. В. Ж. прикл. спектр., 1982, 37, 5, 818—823.
8. Зенькевич Э. И., Лосев А. П., Кочубеев Г. А., Гуринович Г. П. Изв. АН СССР, сер. физ., 1978, 42, 3, 573—579.
9. Зенькевич Э. И. Докт. дис. Минск, 1990.
10. Добриневский С. Ф., Тихомиров С. А., Толсторожев Г. Б. Ж. прикл. спектр., 1988, 43, 6, 1020—1022.

11. *Техвер И. Ю., Хижняков В. В.* ЖЭТФ, 1975, **69**, 8, 599—610.
12. *Хижняков В. В., Техвер И. Ю.* Изв. АН СССР, сер. физ., 1975, **39**, 9, 1895—1899.
13. *Гадонас Р., Данилюс Р., Пискарскас А.* Квант. электроника, 1981, **8**, 3, 669—671.
14. *Rubin, L. B., Paschenko, V. Z.* Lasers in the Life Sciences, 1986, **1**, 2, 171—192.
15. *Сагун Е. И., Джагаров Б. М.* Изв. АН СССР, сер. физ., 1975, **39**, 9, 1977—1980.
16. *Гуринович Г. П., Зенькевич Э. И., Лосев А. П., Сагун Е. И.* Изв. АН СССР, сер. физ., 1983, **47**, 7, 1410—1413.
17. *Rodrigues, J., Kirmaer, C., Holten, D. J.* Amer. Chem. Soc., 1989, **111**, 17, 6500—6506.

Поступила в редакцию
1/II 1991

Vladimir TSIRVONOI, Eduard ZENKEVITS, Viktor GALIJEVSKI, Roaldas GADONAS, Vitautas KRASAUSKAS, Algis PELAKAUSKAS

RELAKSATSIOONIPROTSESSIDE DÜNAAMIKA FOTOSÜNTEETILISTES PIGMENTIDES PIKOSEKUNDILISEL LASERERGASTUSEL

Pikosekundilise absorptsioonspektroskoopia meetoditega ($t_{1/2}=20$ ps) on uuritud korrapärastatud polümeerseid ($n=100-300$ monomeeri) fotosünteesiliste pigmentide (klorofüll a , protoklorofüll a , feofütiin a) agregaate binaarsetes lahustisegudes 293 K juures. On tõestatud, et sellistes süsteemides toimub elektronergastuse energia migratsioon ergastatud S_1 olekute võnkerelaksatsiooni käigus (lokaliseeritud eksitiioni erijuhth) ning võimsa pikosekundilise ergastuse käigus vähenevad τ_s väärtused allapoole spektromeetri ajalise lahutuse piiri. Spektraalsed muutused Q-neeldumisribade piirkonnas, millel on keeruline kahefaasiline kineetika ($\tau_1 < 20$ ps ja $\tau_2 = 660 \pm 50$ ps) ja lineaarne sõltuvus ergastusenergiast, on seostatavad võnkeenergia dissipatsiooni kiirete kollektiivsete protsessidega agregadi sees ja keskkonna osavõtul länu efektiivsele S_1+S_1 annihilatsioonile, millega kaasnevad pigmentide agregaatide pöörduvad struktuursed ümberkorraldused.

Vladimir CHIRVONY, Eduard ZENKEVICH, Viktor GALIEVSKI, Roaldas GADONAS, Vitautas KRASAUSKAS, and Algis PELAKAUSKAS

DYNAMICS OF RELAXATION PROCESSES IN PHOTOSYNTHETIC PIGMENT AGGREGATES UPON PICOSECOND LASER EXCITATION

The ordered polymeric aggregates of photosynthetic pigments (chlorophyll a , protochlorophyll a , pheophytin a) have been investigated by the method of picosecond absorption spectroscopy in binary mixtures of solvents at 293 K. In the aggregates studied the electronic excitation energy migration with participation of S_1 -states corresponds to the «localized exciton» case and under powerful picosecond excitation ($t_{1/2}=20$ ps, 100 photons during 20 ps per aggregate) causes the decreasing of aggregates' τ_s values which are shorter than the experimental time resolution. The observed spectral changes with two-phase kinetics ($\tau_1 < 20$ ps and $\tau_2 = 660 \pm 50$ ps) and linear dependence on the excitation intensity are explained as a result of quick reversible structural transformation of aggregates caused by the local collective dissipation of excess of vibrational energy in S_0 -state after effective S_1+S_1 annihilation.