

УДК 535.372

Р. АВАРМАА, И. РЕНГЕ

**ВИБРОННО-СЕЛЕКТИВНЫЕ СПЕКТРЫ БАКТЕРИАЛЬНОГО
ХЛОРОФИЛЛА В ТВЕРДОМ РАСТВОРЕ**

R. AVARMAA, I. RENGE. BAKTERIAALSE KLOOROFULLI VIBROONSELEKTIIVSED SPEKTRID
TÄHKE LAHUSES

R. AVARMAA, I. RENGE. VIBRONICALLY SELECTIVE SPECTRA OF BACTERIAL CHLORO-
PHYLL IN SOLID SOLUTION

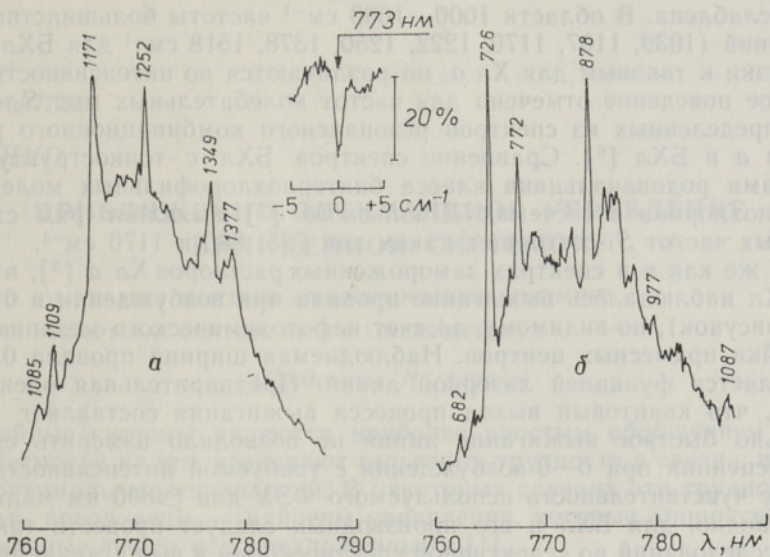
(Представил К. К. Ребане)

1. Селективное лазерное возбуждение позволяет получить узколинейчатую электронно-колебательную (вибронную) структуру в спектрах флуоресценции растворов хлорофилла *a* (Хл *a*) при температуре жидкого гелия [1, 2]. Благодаря применению селективной спектроскопии, а также метода выжигания провалов, накоплена богатая информация о вибронных состояниях этого главного фотосинтезирующего пигмента высших растений и его близких аналогов (см. обзор [3]). Что же касается исследования первичных процессов фотосинтеза, то здесь наиболее четкие результаты получены по бактериальному фотосинтезу (см. напр., [4] и ссылки там), в котором участвует только одна фотосистема. Поэтому изучение высокоразрешенных вибронных спектров бактериохлорофилла (БХл) представляется актуальным, тем более, что данные о них до сих пор полностью отсутствуют.

2. БХл выделен из *Rhodospirillum rubrum* и очищен путем хроматографирования на колонках с сахарозой по стандартным методикам. Раствор пигмента в диизоамиловом эфире (10^{-5} М), содержащем примесь соответствующего спирта, сливали в кварцевую кювету толщиной 1 мм. В результате охлаждения раствора парами гелия образовалась прозрачная стеклообразная матрица. Измерения проводили при 5 К. Положение максимума $S_2 \leftarrow S_0$ -перехода в спектре возбуждения флуоресценции (602 нм) свидетельствует о том, что в данном замороженном растворе БХл находится в виде дисольвата по центральному атому магния.

Спектры флуоресценции измеряли на установке, описанной в [5] и приспособленной для работы в далекой красной области. Использовали сканируемый лазер на красителе (оксазин-1), изготовленный в СКБ АН ЭССР, который накачивали криптоновым лазером CR-2000K («Coherent»). Выходную мощность стабилизировали системой подавления шумов (модель 307; «Coherent Associates»). Шкалу длин волн лазера калибровали с помощью оптогальванических реперных линий [5]. Спектры записывали и обрабатывали с помощью программируемого многоканального анализатора LP-4900B.

3. При монохроматическом возбуждении в области вибронного $S_1 \leftarrow S_0$ -поглощения БХл были получены тонкоструктурные спектры флуоресценции (рисунок) примерно с таким же соотношением линий и фона, как и у других хлорофилловых молекул (ср. [3]). Следовательно, фактор Дебая—Валлера тоже имеет близкие значения, т. е. около 0,2—0,3.



Спектры флуоресценции БХл в матрице диизоамилового эфира при $T=5$ К; возбуждение в вибронной области спектра поглощения при длине волны 703,2 (а) и 724,5 нм (б). Вставка: провал в 0—0-полосе, зарегистрированной как спектр возбуждения флуоресценции для $\lambda_{\text{рег.}}=785$ нм, после 90-секундного выжигания на длине волны 773 нм.

Как известно, в псевдолинейчатых спектрах флуоресценции, возбуждаемых в вибронной области, можно определить частоты внутримолекулярных колебаний в возбужденном S_1 -состоянии. Меняя длину волны возбуждения в интервале 690—750 нм, были вычислены частоты всех активных в вибронном спектре колебаний для БХл. Кроме того, так как для определения относительной интенсивности переходов более информативными являются спектры возбуждения, были сняты спектры возбуждения флуоресценции БХл для ряда длин волн регистрации в пределах неоднородно уширенной 0—0-полосы от 760 до 780 нм (результаты обработки спектров приведены в таблице).

Частоты колебаний ω_i бактериохлорофилла (дисольвата), активных в вибронном спектре $S_1 \leftarrow S_0$ -перехода (0 — интенсивность на пределе обнаружения)

ω_i	Отн. интенсивность	ω_i	Отн. интенсивность	ω_i	Отн. интенсивность	ω_i	Отн. интенсивность
200	2	660	0	947	1	1222	0
340	3	680	1	977	0	1250	2
390	2	700	1	1011	0	1348	2
402	1	725	10	1025	1	1377	2
421	0	772	2	1039	1	1475	2
448	0	854	0	1085	4	1500	5
560	5	879	3	1107	3	1530	2
585	1	900	1	1170	7		
620	2	920	2	1212	0		

При сравнении спектров возбуждения Хл *a* [3] следует отметить общее сходство колебательной структуры $S_1 \leftarrow S_0$ -полосы у двух пигментов. Вместе с тем можно заметить понижение некоторых активных частот в случае БХл: $348 \rightarrow 340$, $570 \rightarrow 560$, $740 \rightarrow 725$ см⁻¹. Совсем не видно интенсивной линии в районе 980 см⁻¹, однако пока не ясно, насколько это связано с сольватацией — в спектре дисольватов Хл *a* эта линия тоже ослаблена. В области 1000—1600 см⁻¹ частоты большинства сильных линий (1039, 1107, 1170, 1222, 1250, 1378, 1518 см⁻¹ для БХл) весьма близки к таковым для Хл *a*, но различаются по интенсивности. Аналогичное поведение отмечено для частот колебательных мод S_0 -состояния, определенных из спектров резонансного комбинационного рассеяния Хл *a* и БХл [6]. Сравнение спектров БХл с тонкоструктурными спектрами родоначальника класса бактериохлорофильных молекул — бактериохлорина в системах Шпольского [7] выявляет ряд сходных активных частот S_1 -состояния, таких как 725, 880 и 1170 см⁻¹.

4. Так же как и в спектрах замороженных растворов Хл *a* [3], в спектрах БХл наблюдалось выжигание провала при возбуждении в 0—0-полосе (рисунок), по-видимому, за счет нефотохимического механизма перестройки примесных центров. Наблюдаемая ширина провала 0,9 см⁻¹ определяется функцией лазерной линии. Предварительная оценка показала, что квантовый выход процесса выжигания составляет $\sim 10^{-4}$. Довольно быстрое выжигание линий не позволило измерить спектры флуоресценции при 0—0-возбуждении с требуемой интенсивностью, поскольку чувствительность используемого ФЭУ для ≥ 800 нм мала.

Очевидно, для БХл и его производных следует провести такой же цикл исследований по селективной спектроскопии и выжиганию провала, какой проведен для других хлорофилловых молекул. Возможно, найдутся и пути к измерению высокоразрешенных спектров нативных форм БХл.

Авторы благодарны К. К. Ребане за внимание к работе, В. И. Годик за предоставление препарата бактерий, К. Маурингу и А. Суйсалу за помощь в подготовке эксперимента и обработке данных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Авармаа Р., Ребане К. Изв. АН ЭССР. Физ. Матем., 22, № 1, 108—110 (1973).
2. Авармаа Р. Изв. АН ЭССР. Физ. Матем., 23, № 1, 93—94 (1974).
3. Avarmaa, R. A., Rebane, K. K. Spectrochim. Acta, 41A, № 12, 1365—1380 (1985).
4. Borisov, A. Yu., Freiberg, A. M., Godik, V. I., Rebane, K. K., Timpmann, K. E. Biochim. Biophys. Acta, 807, № 1, 221—229 (1985).
5. Авармаа Р., Суйсалу А. Изв. АН ЭССР. Физ. Матем., 33, № 3, 333—338 (1984).
6. Lutz, M. In: Advances in Infrared and Raman Spectroscopy (Ed. by R. J. H. Clark and R. E. Hester). 11, New York, Wiley, 1984, 211—299.
7. Thijssen, H. P. H., Völker, S. Chem. Phys. Lett., 82, № 3, 478—486 (1981).

Институт физики
Академии наук Эстонской ССР

Поступила в редакцию
20/II 1986