

В. Е. ХОЛМОГОРОВ

ЭКСИТОННАЯ ПРИРОДА СИГНАЛА Э.П.Р. В КОМПЛЕКСАХ
КРИСТАЛЛИЧЕСКОГО ХЛОРОФИЛЛА С ЭЛЕКТРОННЫМИ
АКЦЕПТОРАМИ

(Представлено академиком Н. М. Эмануэлем 6 IV 1971)

Фотоиндуцированные парамагнитные центры, ответственные за узкий сигнал э.п.р. ($g = 2,0025$; $\Delta H = 2-4$ э), обнаруженный в кристаллах хлорофилла, вызывают несомненный интерес (¹⁻⁶). Нами (³) и Фуджимори (⁵) показано, что аналогичные сигналы э.п.р. возникают в кристаллах хлорофилла с сорбированными парами хинона. Идентифицировать парамагнитный продукт до сих пор окончательно не удалось из-за отсутствия дополнительных сведений о локализации непарного электрона и отсутствия каких-либо спектральных проявлений парамагнитного продукта. Осложняло идентификацию перекрывание по крайней мере двух сигналов э.п.р.: интересующего нас узкого ($g = 2,003$; $\Delta H = 2-4$ э), появляющегося только в присутствии воды и акцептора электрона (кислород, хинон), и широкого ($g = 2,004$; $\Delta H = 10$ э) от центров с малой активностью к воде. Для целей идентификации парамагнитных образований перспективна система, состоящая из кристаллов хлорофилла с сорбированными парами фторанила. Известно (⁷), что в сорбированном состоянии анион-радикалы фторанила характеризуются пятикомпонентным спектром э.п.р. с соотношением интенсивностей $1 : 4 : 6 : 4 : 1$, $\Delta H_{\text{рас}} = 4$ э и $g = 2,005$. Это должно было привести к разделению перекрывающихся сигналов э.п.р. и к их идентификации. Мы исследовали эту систему.

Измерения проводили на поликристаллах хлорофилла а, полученных при испарении растворителя из раствора хроматографически чистого хлорофилла в диэтиловом эфире поверхности (⁸), а также на слоях поликристаллического хлорофилла а, полученных на кварцевых подложках при кристаллизации аморфного слоя в парах воды и растворителя (эфир, метанол, этанол, ацетон) при 20° С. Степень кристаллизации контролировали по относительной интенсивности полосы поглощения 740 мμ (⁹). В опытах использовали фторанил и *n*-бензохинон, очищенные вакуумной сублимацией и до сорбции хранившиеся в вакууме. Для иницирования появления узких сигналов э.п.р. использовали бидистиллят Н₂О и D₂О фирмы «Изотоп».

Измерения спектров э.п.р. выполнены на радиоспектрографе ЭПР-2М ИХФ, а спектры поглощения исследованных слоев записывались на спектрофотометре SV-50А фирмы «Шимадзу». Кристаллизация слоя аморфного хлорофилла в парах воды и растворителя при 20° легко контролируется визуально по появлению характерной мозаичной структуры слоя. Спектрально образование микрокристаллов хлорофилла проявляется в появлении полосы поглощения у 740 мμ (⁵⁻⁷). Такие поликристаллические слои хлорофилла а обладают теми специфическими свойствами, которые характерны для кристаллов хлорофилла: они дают интенсивный сигнал э.п.р. ($g = 2,0025$; $\Delta H = 2$ э) в присутствии паров воды и кислорода при облучении красным светом (⁸⁻¹²). Следует заметить, что наряду с интенсивным узким наблюдается и широкий сигнал э.п.р. ($g = 2,004$; $\Delta H = 10$ э), характерный для аморфных образцов хлорофилла. Его появление можно объяснить наличием в слое некоторого количества незакристаллизовавшегося, аморфного

хлорофилла, что подтверждается присутствием полосы поглощения 670 мμ в слое поликристаллов хлорофилла.

Необходимым условием появления узкого сигнала э.п.р. является наличие воды в кристаллах хлорофилла (⁸⁻¹³). Если эту «кристаллизационную» воду удалить вакуумной тренировкой поликристаллического образца хлорофилла при 40—50°, то последний теряет способность давать узкий фотоиндуцированный сигнал э.п.р.

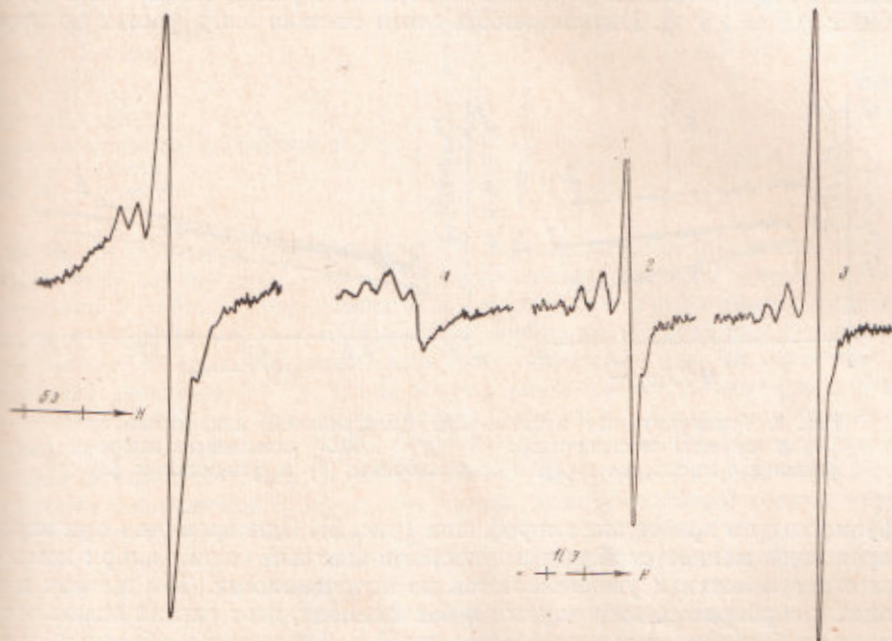


Рис. 1

Рис. 2

Рис. 1. Спектр э.п.р. поликристаллического слоя хлорофилла а с сорбированными парами *n*-бензохинона в присутствии насыщенных паров воды при 20° в анаэробных условиях

Рис. 2. Сигнал э.п.р. поликристаллов хлорофилла а с сорбированными парами фторантена до (1), через 1 мин. (2), через 5 мин. (3), после выпуска в вакуумированную ампулу паров воды при 20°

Аналогичный узкий сигнал э.п.р. возникает в слое поликристаллического хлорофилла (а также и в кристаллах) с сорбированными парами *n*-бензохинона после выпуска в ампулу с образцом насыщенных паров воды (^{8, 10, 12}). До выпуска паров воды в образец, находящемся в вакууме, наблюдался только широкий сигнал э.п.р., характерный для аморфного хлорофилла с сорбированным *n*-бензохиноном. Этот сигнал при впуске паров воды изменяет форму: сужается, в нем проявляется пятикомпонентная структура анион-радикала *n*-бензохинона (¹⁷) (рис. 1). В то время как узкий сигнал э.п.р. растет по мере диффузии воды в кристаллы хлорофилла, широкий сигнал при этом не меняется по интенсивности. Эти два сигнала принадлежат двум парамагнитным образованиям, непосредственно не связанным между собой. Кроме того, узкий сигнал обязан стабильным во времени парамагнитным центрам: он наблюдается в течение нескольких дней. Анион-радикалы *n*-бензохинона исчезают через несколько часов после выпуска паров воды.

При действии паров фторантена на слой поликристаллического хлорофилла (или кристаллы), находящейся в вакууме, возникает пятикомпонентный сигнал э.п.р. ($g = 2,005$; $\Delta H_{\text{рас}} = 6$ э) анион-радикала фторантена. Этот сигнал растет при облучении образца красным светом до некоторого

стационарного значения. После прекращения освещения он не меняется в течение длительного времени (несколько дней). По своим параметрам этот сигнал аналогичен сигналу э.п.р., наблюдаемому при адсорбции паров фторанила на аморфном хлорофилле.

Специфичность кристаллического состояния пигмента проявляется и на этих образцах при впуске в ампулу паров воды. Так же как и в кристаллах хлорофилла с *n*-бензохиноном, при действии паров воды на поликристаллы пигмента с сорбированным фторанилом возникает узкий сигнал э.п.р. ($g = 2,0025$; $\Delta H = 1,6$ э). Интенсивность этого сигнала э.п.р. растет по мере

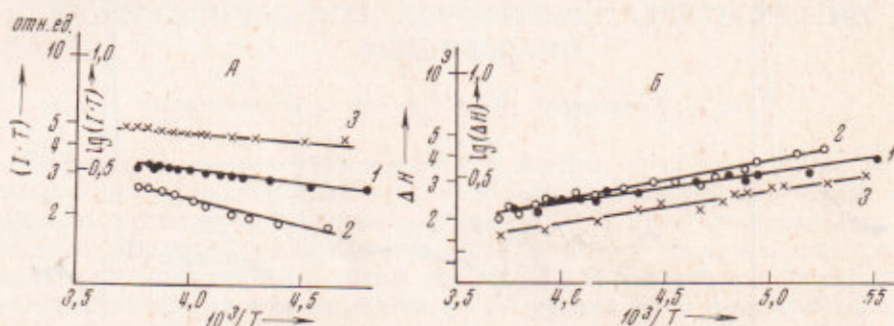


Рис. 3. Температурные зависимости интегральной интенсивности (А) и ширины сигнала э.п.р. (Б) ($g = 2,0025$) комплексов хлорофилла а с кислородом (1), *n*-бензохиноном (2) и фторанилом (3)

диффузии воды в кристаллы хлорофилла (рис. 2). Одновременно при впуске паров воды меняет свой вид и пятикомпонентный сигнал э.п.р.: компоненты его сужаются и увеличиваются по интенсивности. Так же как и в образцах с сорбированными парами *n*-бензохинона, этот сигнал оказывается менее стабильным, чем узкий. Последний наблюдается в образцах, хранившихся в течение двух недель в анаэробных условиях.

Итак, для кристаллов хлорофилла а с сорбированными акцепторами электрона (кислород, *n*-бензохинон, фторанил) характерно появление при 20° интенсивного узкого симметричного сигнала э.п.р. ($g = 2,0025$; $\Delta H \cong 2$ э) при действии паров воды. Следует отметить, что нами не было обнаружено сужения этого сигнала при замене обычной воды на тяжелую D_2O .

Наиболее примечательна температурная зависимость формы и интегральной интенсивности этого сигнала э.п.р. В отличие от температурной зависимости широкого сигнала э.п.р. ($g = 2,004-2,005$), характерного для образцов аморфного хлорофилла с сорбированным акцептором электрона, для узкого сигнала э.п.р. закон Кюри не выполняется. Интегральная интенсивность сигнала падает с понижением температуры (рис. 3) *. Этот результат свидетельствует о том, что концентрация парамагнитных образований, ответственных за узкий сигнал э.п.р., уменьшается при понижении температуры. Следовательно, за этот сигнал э.п.р. ответственны возбужденные состояния. Ими могут быть парамагнитные состояния комплексов кристаллического хлорофилла с акцепторами электрона. Основное состояние этих комплексов, как показывают полученные в этой работе результаты (рис. 3), непарамагнитно. Таким состоянием может быть синглетное состояние комплекса с переносом заряда (спины непарных электронов антипараллельны) ⁽¹⁰⁾. Парамагнитным, возбужденным состоянием таких комплексов является триплетное состояние (спины параллельны) ⁽¹⁰⁻¹³⁾.

Из данных рис. 3 видно, что температурная зависимость интегральной интенсивности и ширины сигналов э.п.р. с $g = 2,0025$ комплексов кристаллического хлорофилла а с электронными акцепторами (кислород, *n*-бензо-

* В этих опытах измерения проводились в условиях, исключающих эффект сужения.

Таблица 1

Энергетические характеристики $\Delta E_{1,2}$ триплетных экситонов
и частота спинового обмена ν в некоторых комплексах

Комплекс	ΔE_1 , эв	ΔE_2 , эв	ν , сек ⁻¹	Источник
$[(C_6H_5)_3NH]^+ (TЦХМ)_2^-$	0,034	—	—	(19)
$[Ph_3AsCH_3]^+ (TЦХМ)_2^-$	0,062	0,16	$3,3 \cdot 10^{13}$	(19, 20)
$[Ph_3PCN_3]^+ (TЦХМ)_2^-$	0,062	0,19	$5,4 \cdot 10^{13}$	(19, 20)
$(Cs^+)_2 (TЦХМ)_3^-$	0,16	0,22	$4,1 \cdot 10^{13}$	(19, 20)
$K^+ (TЦХМ)^-$	0,26	—	—	(20)
$Na^+ (TЦХМ)^-$	0,16	—	—	(20)
$Li^+ (TЦХМ)^-$	0,05	—	—	(20)
Кристаллический хлорофилл а + O ₂	0,024	0,026	—	
То же + хинон	0,042	0,036	—	
То же + фторанил	0,018	0,028	—	

хинон, фторанил) с сорбированными парами воды подчиняется экспоненциальному закону $\exp(-\Delta E/kT)$. Полученные значения энергии ΔE представлены в табл. 1. Эти данные показывают, что в комплексах кристаллического хлорофилла при термическом возбуждении возникают триплетные состояния с сильным спин-спиновым обменом — так называемые триплетные экситоны⁽¹³⁻¹⁵⁾. Из-за малого энергетического интервала ($\Delta E = 0,018 - 0,042$ эв) концентрация триплетных экситонов в исследованных комплексах велика даже при -100° . Это и приводит к сильным спин-спиновым взаимодействиям, к смешиванию спиновых функций триплетного состояния комплекса с переносом заряда, к исчезновению тонкой структуры спектра э.п.р. и к появлению узкой синглетной линии э.п.р. с $g = 2,0025$. Следует отметить, что в создании «экситонной зоны» непосредственное участие принимают молекулы воды. Известно^(6, 16), что молекулы воды образуют своеобразные мостики между соседними молекулами хлорофилла, обеспечивая дальний порядок в кристаллах пигмента, и приводят к сильным взаимодействиям между ними. Возникновение «экситонной зоны» обуславливает миграцию и спин-спиновый обмен триплетных экситонов. Удаление воды из кристаллов ведет к исчезновению обменных спин-спиновых взаимодействий непарных электронов, к исчезновению сигнала э.п.р. с $g = 2,0025$.

Поступило
23 III 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ В. Е. Холмогоров, А. Н. Теренин, ДАН, 137, 199 (1961). ² V. Kholmogorov, A. Terenin, Naturwiss., 48, 158 (1962). ³ А. Н. Теренин, В. Е. Холмогоров, В сборн. Биохимия и биофизика фотосинтеза, «Наука», 1965, стр. 5. ⁴ A. F. Anderson, M. Calvin, Nature, 199, 241 (1963). ⁵ G. Sherman, E. Fujimori, Nature, 219, 375 (1968); J. Phys. Chem., 72, 4345 (1968). ⁶ J. J. Katz, K. Ballschmiter et al., Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A., 60, 100 (1968). ⁷ Ю. Д. Пименов, В. Е. Холмогоров, А. Н. Теренин, ДАН, 163, 935 (1965). ⁸ И. А. Попова, Кандидатская диссертация, Ботанический институт им. В. Л. Комарова АН СССР, Л., 1966. ⁹ E. E. Jacobs, A. E. Valter, A. S. Holt, Arch. Biochem. and Biophys., 53, 228 (1954). ¹⁰ D. Bijl, H. Kainer, A. C. Rose-Innes, J. Chem. Phys., 30, 765 (1959). ¹¹ D. B. Chesnut, W. D. Phillips, J. Chem. Phys., 35, 1002 (1961); D. B. Chesnut, P. Arthur, J. Chem. Phys., 36, 2969 (1962). ¹² M. T. Jones, D. B. Chesnut, J. Chem. Phys., 38, 311 (1963). ¹³ H. Steinlicht, H. M. McConnell, J. Chem. Phys., 35, 1793 (1961). ¹⁴ H. M. McConnell, R. Lynden-Bell, J. Chem. Phys., 36, 2393 (1963). ¹⁵ H. M. McConnell, H. O. Griffith, D. Pooley, J. Chem. Phys., 36, 2518 (1962). ¹⁶ В. Е. Холмогоров, А. Н. Сидоров, А. Н. Теренин, ДАН, 147, 954 (1962).