

# 捕光天线和反应中心的超快光物理研究\*

刘伟民<sup>1</sup> 朱荣义<sup>1</sup> 郭立俊<sup>2</sup> 钱士雄<sup>1,†</sup>

(1 复旦大学物理系 上海 200433)

(2 河南大学物理系 开封 475001)

**摘要** 文章主要介绍了紫细菌 *Rhodobacter sphaeroide* 光合作用原初过程中的两种重要的功能体——捕光天线和反应中心的超快光物理研究,利用飞秒抽运-探测和飞秒瞬态吸收探测技术已经对捕光天线内两种色素(B800和B850)内部或之间的能量传递过程作了广泛的研究和测试,其能量传递过程发生在几百飞秒至几个皮秒时域;而在反应中心中,在几种色素间的电荷分离以及电子传递过程也仅为皮秒量级。

**关键词** 光合作用,捕光天线,反应中心,超快光物理,飞秒抽运-探测技术

## Photoinduced ultrafast dynamics in light-harvesting and reaction center of purple bacteria

LIU Wei-Min<sup>1</sup> ZHU Rong-Yi<sup>1</sup> GUO Li-Jun<sup>2</sup> QIAN Shi-Xiong<sup>1,†</sup>

(1 *Physics Department, Fudan University, Shanghai 200433, China*)

(2 *Physics Department, Henan University, Kaifeng 475001, China*)

**Abstract** The photoinduced ultrafast dynamics taking place in the peripheral light harvesting antenna LH2 and reaction center in purple *Rb. sphaeroides* bacteria has been studied by ultrafast spectroscopic techniques. The primary process of photosynthesis involves the capture of light energy, energy transfer and a series of electron transfers which all take place within hundreds of femtoseconds to several picoseconds.

**Keywords** photosynthesis, light-harvesting, reaction center, ultrafast photophysics, femtosecond pump-probe

生活在地球上的人类社会依靠着人类的智慧和创造精神不断的在探索和发展各种新型的科学技术,使地球上的文明达到了空前未有的高度,其中最重要的当然是自然科学,它使我们不断地认识周围的世界,并改造着世界. 但人类社会发展的基础是人的基本生活需求,人类要生存、繁衍就离不开食物,人类每天都要消耗大量的食品,包括水果、蔬菜和动物肉食,而这些动植物食品的基础又是植物,植物为人类和动物提供了各种丰富的蛋白质、淀粉和脂肪. 也为我们提供了充足的氧气. 地球上所有生物的能量几乎都来自光合作用.

植物之所以能为人类提供蛋白质、淀粉和脂肪,

是因为在植物中存在着光合作用过程,在太阳光的照射下,植物中的叶绿素可以吸收阳光,从而引发一系列复杂而又奇特的光物理和光化学过程. 所以,光合作用过程是自然界中最重要的化学反应. 能进行光合作用的生物主要有两类:绿色植物和光合细菌. 在这些生物体系中,光能首先由捕光天线吸收,所吸收的光能将快速、高效地经过一系列的能量传递过程传递到反应中心<sup>[1]</sup>,在那里产生了电荷分离和电子转移,这是光合作用的原初反应过程,

\* 国家自然科学基金(批准号:10274013)资助项目

2004-08-24 收到初稿 2005-02-22 修回

† 通讯联系人. Email: sxqian@fudan.ac.cn

在这之后,经由光合磷酸化反应生成腺嘌呤磷酸脂(NADPH)及三磷酸腺甙(ATP),最终产出人类需要的碳氢化合物并放出氧气.整个反应过程高效且有序地把光能转化成化学能而储存在植物和光合细菌中.高等植物含有两个光合系统(光合系统I,光合系统II),而光合细菌只含有一个光合系统.

本文主要论述和介绍了紫细菌光合作用体系的原初反应过程的研究工作.光合作用的原初反应过程是光合作用的重要一步,它不仅有效地吸收了阳光,而且它发生在极短的时间中,从吸收光子到发生电子转移,只用了100ps(皮秒)左右的时间,1ps是 $10^{-12}$ s,也就是一秒的万亿分之一,发生在如此短的时间中的过程,人们是如何知道的呢?又是如何进行研究和测量的呢?这就有赖于超短脉冲激光技术的发展了.

自从1960年第一台红宝石激光器问世后,激光技术得到了前所未有的飞速发展,成为上个世纪最重要的科学和技术成就之一,如今人们在市场上已经可以买到脉冲持续时间短至几个飞秒(fs,1fs= $10^{-15}$ s)的激光器,激光技术不仅开拓了光通信这样的新兴市场,而且它为人们研究自然界提供了独一无二的时间分辨技术,正是有了这样在时间上特别短的“尺子”,人们才逐渐地揭开了光合作用的原初反应过程的神秘面纱.

## 1 超快时间分辨测量技术

为了使读者能了解对光合作用的原初光物理过程的研究工作,我们还要先简略介绍超短脉冲激光技术.超短脉冲激光是一种超短脉冲光,人们对脉冲光并不陌生,因为照相机所配备的闪光灯就是一种脉冲光,尽管人们可以感到它的短暂,但它每次的闪光时间为毫秒量级( $10^{-3}$ s),与超短脉冲光相比,这个时间是太长了.早期利用调Q技术的红宝石激光器的脉冲持续时间可达到纳秒( $10^{-9}$ s)量级,而后期锁模技术和激光晶体材料的快速发展将激光的脉冲持续时间又压缩到皮秒( $10^{-12}$ s)量级,甚至飞秒时域,这就是现在所说的超短脉冲激光器.

那么人们是如何使用超短脉冲激光器来进行超快过程的研究呢?怎样进行测量呢?这就要采用超快时间分辨测量技术.典型的方法有条纹相机,抽运-探测技术和瞬态吸收技术等.条纹相机主要用在皮秒时域(最近也已有分辨达到0.5ps的产品),而抽运-探测技术则可以用到飞秒时域<sup>[21]</sup>,它是首

先用一束强的超短脉冲抽运激光激发样品,引起样品的光学性质的改变(如折射率、吸收系数等),这些光学性质的变化与材料内的光吸收、电子跃迁和电子与空穴复合等微观过程密切相关.然后用一束与抽运激光脉冲一样很短且可调延迟时间的探测光来探测样品的变化,从而了解材料在超短时间中的变化特性.这是对光合作用的原初光物理过程进行研究的主要方法.飞秒时域的时间分辨光谱是用光学延迟线(ODL)得以实现,它是以一个装在精密移动架上的反射镜对光的光程作精细调节,从而以空间位置的调节得到两束光在传播时间上的调节.这样,与抽运激光有一定延迟的探测光再经过样品后所测得的透射率的微小变化就可以使人们了解材料在极短的时域中的超快响应.如果采用由非线性技术得到的飞秒超连续白光谱作为探测光,并用光谱仪接收整个波段的透射谱,这就是瞬态吸收技术.而这些超快测量技术单靠电子技术目前还无法实现.因此可以讲,飞秒激光器加上超快时间分辨测量技术是目前研究各种材料在飞秒时域的超快响应的唯一行之有效的方法.

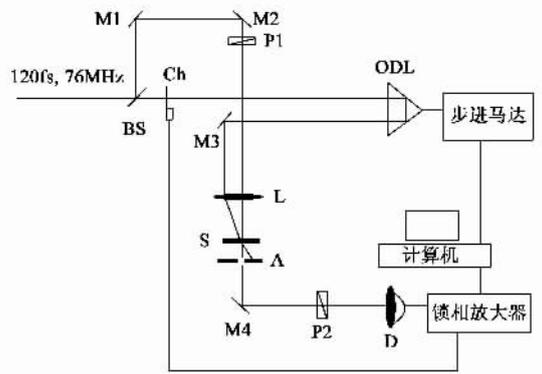


图1 飞秒抽运-探测实验装置图(Ch为斩波器,P1,P2为偏振片,M1,M2,M3,M4为反射镜,BS为分束器,S为样品,L为透镜,ODL为光学延迟线,由步进马达带动)

图1给出了抽运-探测实验装置图,飞秒激光束由分束镜分成抽运光和探测光,抽运光经过一个旋转的斩波器而得到有方波包络的强度调制,再由ODL调节两束光的时间延迟,两束光经透镜聚焦后照射在样品的同一区域上,并由光电接收器接收通过样品后的探测光,信号输入到锁相放大器后就可检测出探测光透射率的微小变化与延迟时间的关系,即超快响应.在实验上,根据抽运光和探测光的波长选择,可以有单色或双色抽运-探测实验,以满足不同材料的研究需要.

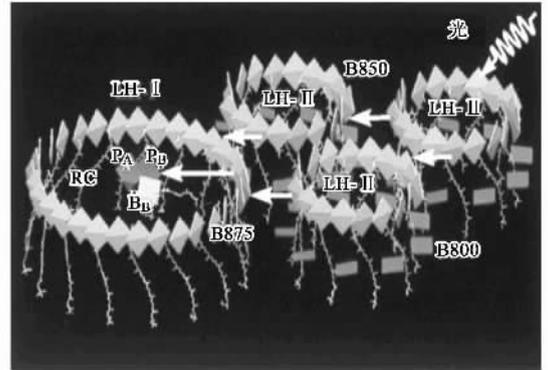
## 2 叶绿素的结构

光合作用发生在自然界的植物以及菌类、藻类中,高等植物中光合作用的原初过程涉及捕光外周天线系统 LH II( LH 是英语 light - harvesting 捕光天线的缩写)和反应中心,它们的结构都比较复杂,与之比较,菌类的捕光外周天线系统和反应中心的结构则要简单得多,对它们的研究工作也比较充分,下面主要介绍对紫细菌的捕光外周天线系统和反应中心的研究工作。

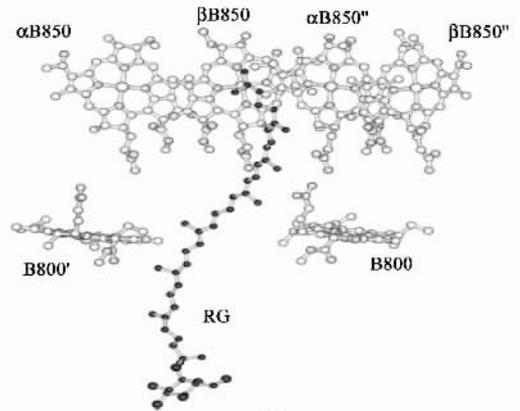
核天线 LH I 和反应中心 RC 共同构成原初过程的光反应系统,它们的结构已用高分辨的 X 射线衍射和电子显微镜等进行研究,并于 20 世纪末期得到确定<sup>[1,3]</sup>,这项研究成果荣获诺贝尔化学奖。图 2 ( a)是整个反应系统的结构图,LH II 作为最初的光能捕获天线,紧密地排列在核天线 LH I 的外侧,而 RC 则镶嵌在 LH I 之中,由外围的 LH II 所吸收的光能首先经由 LH II 内部传递,再传递给 LH I - RC 复合体,整个过程发生在 100ps 时间范围之内。

图 2( b)是 LH II 的结构,它是一个有八重或九重轴对称性的色素蛋白复合体,色素包括细菌叶绿素( BChl)和类胡萝卜素( carotenoid)。BChl 是一个带有尾巴的镁卟啉,对于紫细菌 *Rhodobacter sphaeroide*,每个 LH II 中有 27 个 BChl 色素,其中 18 个 BChl 构成一个紧密排列的有九重对称的环状结构,相邻的 BChl 色素的镁原子间的距离仅为 0.87nm,由于它们之间的相互作用很强,激发态的电子能级较低,吸收峰处在 850nm,故称之为 BCh-B850 色素,另外 9 个 BChl 色素分散于蛋白螺旋之间。其吸收峰处在 800nm,称为 BCh-B800 色素, B800 和 B850 色素之间以类胡萝卜素相连。紫细菌 *Rhodobacter sphaeroide* 的吸收光谱由图 2 - 3 给出,可以看到由 B800 和 B850 色素所引起的在近红外区的两个强吸收带。

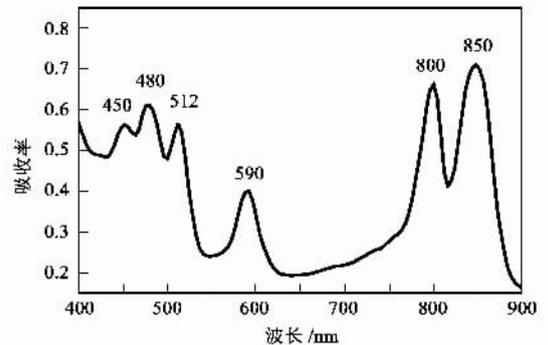
紫细菌的光合作用过程主要就靠 B800 和 B850 两种色素来吸收光能(虽然类胡萝卜素也可吸收光能,但只占很小部分),所以它们吸收的是近红外区的光能,这种所吸收的光能最终将以极高的效率传递到反应中心,人们当然渴望了解,这种高效传递是如何进行的,又是如何发生的,这与复合体的结构又有什么关系,这种研究对于人类制造人工光合作用体系无疑是极为重要的。在 40 年前,当人们只拥有脉冲持续时间为纳秒的激光器时,人们就已



(a)



(b)



(c)

图 2 ( a)外周天线系统 LH II,核天线 LH I 和反应中心 RC 共同构成的反应系统的结构图;( b) LH II 的结构;( c) *Rhodobacter sphaeroide* 外周天线系统 LH II 的吸收光谱

经测得光能由天线色素传到反应中心的时间比脉冲持续时间还要短,但无法测出确定的时间,只是在飞秒激光问世后,这种超快速的能量传递过程才为人们所了解。

## 3 LH II 的超快光动力学研究

光能被 LH II 捕获,高能量(即波长在 800nm 附近)的光子可由 B800 色素吸收,而低能量(即波长

在 850nm 附近)的光子可由 B850 色素吸收,其中存在几种能量传递过程,即同一个 LH II 复合体中 B800 色素间的传递, B800 向 B850 色素的传递以及 B850 之间的传递. 同时还将发生在不同的 LH II 之间的能量传递,这当中,同一个 LH II 内部的传递过程最为复杂和重要.

基于物理原理,分子中的高能量激发向低能量激发的转移效率比它的逆过程的效率要高得多,因此, B800 色素的激发除了在 B800 色素内部转移外,最后还会以很高的效率转移到 B850 色素中.

通过采用波长在 800nm 到 850 nm 的飞秒激光的抽运-探测或瞬态吸收实验技术,人们已对这些能量传递过程进行了广泛和详细的研究<sup>[4-7]</sup>,因为实验样品和实验条件的差别,不同实验室测得的结果也会有些差别.

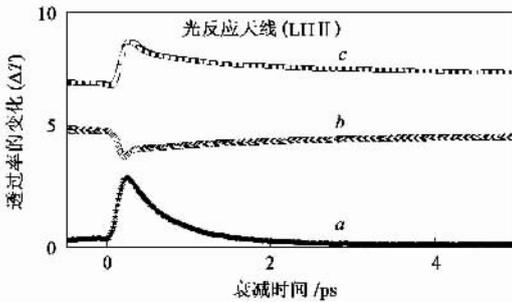


图 3 Rhodobacter sphaeroide LH II 在一些不同波长的超快动力学结果(曲线 a 对应的波长为 795nm ;曲线 b 对应的波长为 833nm ;曲线 c 波长为 855nm )

图 3 给出了不同波长的抽运-探测研究结果,采用 800 nm 的激光,这时激发的主要是 B800 色素,由于 B800 色素的基态的吸收截面很大,而激发态的吸收截面较之小得多,因而在抽运-探测结果上呈现为一个瞬态漂白信号,即在抽运光的作用下, B800 色素从基态跃迁到激发态,基态上的分子数减少,而激发态上的分子数增加,使整个样品对探测光的吸收就会减小,在没有抽运光的激发时,探测光的透射就会增大,就得到漂白信号. 这个漂白信号的弛豫行为(也就是漂白信号的强度衰减)反映了 B800 色素的激发态上分子数的减少,原则上, B800 色素的激发态上的分子数可以返回 B800 的基态,也可以传递给 B850 色素. 在天线系统中,后者的效率要高得多.

从 815 nm 激光的抽运-探测结果可以看到,在大约 1ps 以后,瞬态信号从漂白变为吸收,这正表明, B800 色素的激发已经传递到 B850 色素,使得

B850 色素的激发态分子数增加,因为 B850 色素的激发态的吸收截面大于基态的吸收截面,在瞬态行为上表现为瞬态吸收信号. B800 漂白信号的衰减寿命主要反映了能量由 B800 向 B850 色素的传递时间,从瞬态结果可测定在室温时这个传递时间为 700fs,实际上,在 800nm 附近,尽管 B800 色素的吸收占了主要作用,但 B850 色素也是有吸收的. 这是因为相邻 B850 色素之间的距离仅为 1nm,在这些色素间存在着很强的相互作用,相互作用的结果使得 B850 色素的电子吸收带变宽,其短波边的吸收一直可延伸到 800nm 以下,这已从我们对去除 B800 色素的 LH II 样品的吸收光谱的测量得到证实. 完全去除 B800 色素后的 LH II 样品的抽运-探测测量结果只显示一个瞬态吸收信号,而没有漂白成分,表明对漂白信号的研究可了解 B800 的动态特性,而对瞬态吸收的研究就可了解涉及到 B850 色素的能量传递过程.

不管是 B800 色素还是 B850 色素,所吸收的光能最终都会转移到 B850 色素. B850 色素的激发态的高能级仍有很大的吸收截面,从那里,分子还可跃迁到更高的激发态,这对应 B850 色素的双激子态,因此在包括 B800 和 B850 色素的系统中,光激发后会发生一系列的能量传递和弛豫过程: B800 色素的激发,从它的激发态向更高激发态的跃迁,激发态上的分子弛豫回基态, B800 色素的激发态的能量向 B850 色素的激发态转移, B850 色素从其激发态再向更高的激发态跃迁. 在有高的激发能量密度情况下,还存在激子之间的强相互作用而导致的激子-激子湮灭过程. B850 色素的激发态内部的不同能级间的能量传递,激发态上的分子通过辐射弛豫(发射荧光)或无辐射弛豫过程回到基态等. 这些过程在整个 LH II 的能级和能量传递中的作用取决于这些过程的效率和有关参数,如吸收截面、荧光寿命、激子-激子湮灭常数、带内弛豫速率和双激子态的弛豫速率等. 图 4 给出了 LH II 中这些主要的能级和有关的能量弛豫过程.

波长为 820—840 nm 的抽运-探测结果就特别有意思,在很短的延迟时间时,最先出现的是一个强的瞬态吸收信号,紧接着所显示的是一个很尖的漂白峰(大约在 300fs 处),随后又回复到一个缓慢减小的吸收信号. 对于这个结果的分析就涉及到许多过程. 开始的瞬态吸收信号是两种效应的共同作用结果,一是 B850 色素从它的激发态向更高激发态的跃迁,另一个过程是抽运光和探测光在样品中

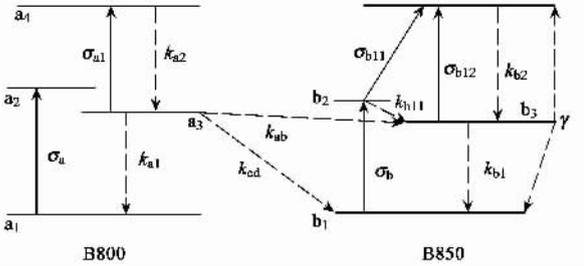


图4 简化的八能级系统描述 B800 和 B850 系统的有关能级和激发、弛豫过程(其中包括 B800 分子之间、B800/B850 之间以及 B850 分子之间的动力学过程。\$\sigma\$ 为各能态的吸收截面 \$k\_i\$ 为各能态的弛豫速率)

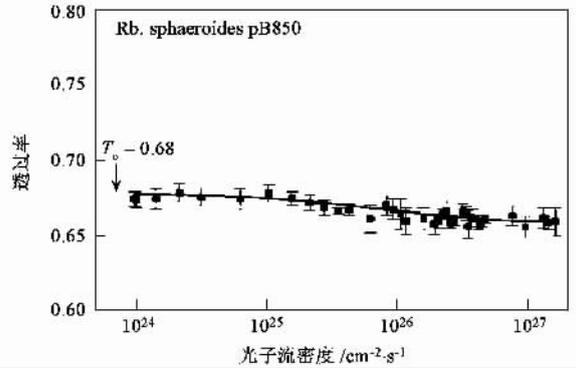


图5 去除 B800 色素的突变 LH II 样品在 796nm 处的非线性吸收

的相互作用而产生的信号，人们称之为相干假象，这种假象是抽运探测技术中常见现象。而随后的向上的很尖的漂白峰则对应于双激子态的漂白作用，其衰减寿命应该反映了分子在双激子态上的寿命。而在更长的延迟时间内占主要的瞬态吸收特性则来源于 B850 的激发态的高能级。这个瞬态吸收的衰减寿命则反映了激发态的带内弛豫过程，表明激发态的分子在几个 ps 的时间内将会向下跃迁到激发态的最低能级。这些最低能级有很长的寿命，分子可以长时间地保存激发能量，这是 LH II 络合物储藏光能之处。在天线复合体的外面部分的 LH II 的激发能，将通过相邻 LH II 的快速能量传递而最终高效地传到 LH I - RC 的复合体。如果采用图 4 所给出的模型，我们就可对实验结果进行拟合处理，并能得到所涉及过程的一些重要参数。

然而采用波长在 850nm 的抽运 - 探测结果则得到的主要是漂白信号，这表明在不同的激光波长激发下，B850 色素的激发态的吸收截面是不同的，而且在探测光的作用下，被激发的 B850 还能通过受激发射过程回到基态，因而产生一个很慢衰减的漂白信号。从衰减寿命的测量就可知道 B850 色素在激发态低能级的停留时间。因此，从不同激光波长所作的抽运 - 探测结果的分析处理，就可了解一些基本过程在不同波长时的作用情况，例如有关激发态的吸收截面，双激子态的寿命等。

Stiel 等人采用非线性吸收的技术进行了研究<sup>[8]</sup>，即改变入射激光的强度测量对去除 B800 色素的突变 LH II 样品的透射率的变化。他们发现，对 796nm 的激光，样品的透射率会随入射激光的强度的增加而变小，结果由图 5 给出。从测得的结果结合多能级模型，他们分析认为，B850 色素的激发态的激发和吸收是引起非线性吸收的主要原因。

LH II 所吸收的光能主要是处于 B800 和 B850 的两个吸收带，而存在于 LH II 中的胡萝卜素也可对光有吸收，吸收带处在蓝绿波段，但它主要起着光保护和稳定结构的作用，即在有强的光照射时，胡萝卜素的激发三重态会保护 B800 和 B850 色素免受原子氧的伤害。

对于 LHII 络合物中高效的光能传递过程的研究工作还采用了瞬态各向异性和低温瞬态光动力学等技术<sup>[9,10]</sup>，瞬态各向异性测试是测量抽运光和探测光的偏振方向在互相平行和互相垂直时的信号之差，由此可以测得与 LHII 的偶极矩取向和激发态的退偏振等有关的动态特性。通过这些实验研究工作，人们对发生在 LHII 络合物中的光能传递已有了比较清楚的了解，但是至今为止，基于 BChl 之间的偶极 - 偶极相互作用等理论计算所得到的转移速率等数据仍然与实验结果有一定的差别，分析表明，为要精确描述 LHII 中的光能传递过程，还必须考虑 LHII 中的其他成份，如胡萝卜素、蛋白质等对光能传递过程的作用以及电子交换等过程的作用。

#### 4 反应中心的超快动力学研究

由 LH II 吸收的光能最终会传递到位于由 LH II 所包围的核天线 LH I 和反应中心 RC 的复合体。LH I 是一个紧紧包住 RC 的一个 BChl 环状体，一般有 32 个 BChl 分子。LH II 吸收的光能将先传递给核天线 LH I，再由它传给反应中心，总的传递时间为几十皮秒。

反应中心在光合作用的原初过程中占有极其重要的地位，在那里，所得到的光能将引发电荷分离和一系列重要的电子转移过程<sup>[11]</sup>，而电子转移过程是驱动生物化学反应从而合成 ATP 和 NADPH 的重要前提。

反应中心的结构示于图 6(a)，对应的吸收光

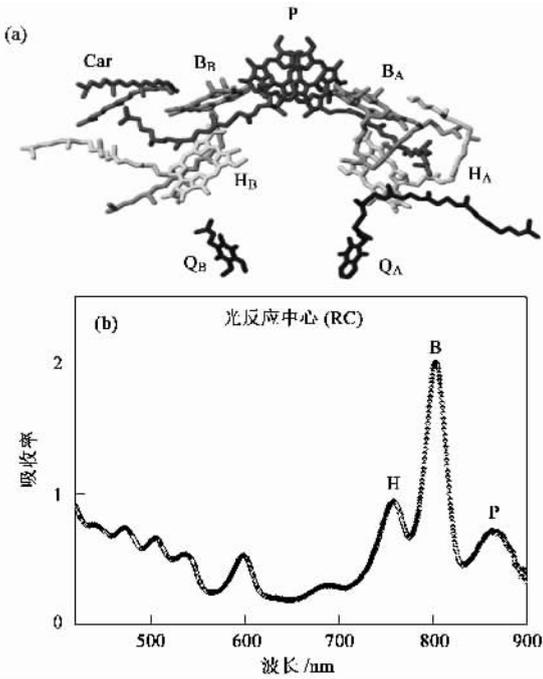


图6 (a)RC 的结构 (b)Rhodospira rubra 反应中心的吸收光谱

谱则显示于图 6(b). 反应中心中有一个由两个 BChl 组成的二聚体 P, 两个辅助细菌叶绿素 B, 两个细菌脱镁叶绿素 H, 两个泛醌 Q, 和一个非血红素铁, 它们构成两个近乎对称的电子转移分支, 并嵌埋在辅基蛋白之中. 有趣的是, 其中一支具有光化学活性, 而另一支则基本上不参与电子转移. 对这个现象的解释目前已提出有顺序机制和超交换机制等理论. 在反应中心中, 由天线传递过来的能量在 RC 中经过一系列的传递后, 最终会产生由带正电的脱镁叶绿素 H 和带负电的泛醌 Q 所组成的电子转移体系  $H^+BQ^-$ , 而这个电子转移体系是下一步重要的化学反应的基础.

从吸收光谱可以看到, P 的吸收带的中心在 865nm, 由于二聚体内的相互作用结果, 其实它包含两个激子带  $P_{y+}$  和  $P_{y-}$ , 而在 800nm 处的吸收来自于 B, 750nm 的吸收则由 H 引起, 从激发态的能量来看, 由天线色素 LH II 传来的能量可以激发二聚体 P, 但不足以直接激发 B 和 H. 可是 B 和 H 在电子转移过程中有着重要的作用.

二聚体 P 在接收到天线传来的激发能后可以产生电荷分离, 但因 P 离 Q 的距离较远, 电子并不能一步就传到 Q, 而 P 离 B 的距离最短, 约为 1nm, 所以最早人们认为电子先由 P 传到 B, 再经 H 而到达 Q, 由飞秒超快光谱测量得到的传递时间分别为

3ps, 1ps 和 200ps, 也有人认为 P 离 H 只有 1.7 nm, 电子也可由 P 直接传到 H 再到 Q. 最近通过研究 RC 突变体中的超快电子过程和相应的量子产额, 又有人提出, 还可能存在另一个通道, 即从 B 可直接产生电荷分离, 而不需要经过 P.

我们通过对紫细菌 Rhodospira rubra RC 的飞秒抽运-探测研究, 在采用波长为 850 nm 的激光时, 与二聚体 P 有关的动力学过程显示有几个成分, 130 fs 的快速过程, 2.6ps 的快过程和一个上百皮秒的慢过程, 见图 7<sup>[12]</sup>. 130 fs 的快速过程对应于二聚体内部的内转换过程, 2.6ps 的快过程则是反映 P 到 H 的电子传递过程.

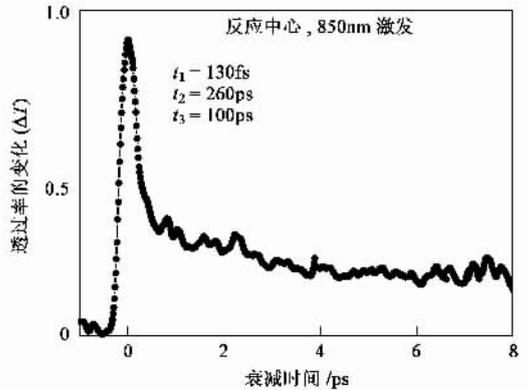


图7 Rhodospira rubra RC 在 850nm 处的单色抽运-探测结果

采用色素置换技术, 我们可以把 RC 中的某些色素进行变异, 采用替代原来的细菌脱镁叶绿素, 就可以研究 H 在能量传递和电子转移中的作用, 从变异样品吸收光谱可以看出, 野生 RC 位于 760 nm 附近, 细菌脱镁叶绿素的吸收带基本消失, 而在 675 nm 左右出现了高等植物的脱镁叶绿素的特征吸收带. 同时也可以看出, 置换后 P 二聚体的吸收峰位也发生了蓝移, 从野生 RC 的 865 nm 移动到了 855 nm 处. 结果发现, 变异后的 RC 在 850 nm 的动力学过程确实有了变化, 几个特征时间分别测定为 310fs, 4.2ps 和一个上百皮秒的慢过程. 可以看到, 在色素替换后, 由于 P 的微环境的变化, 确实使由 P 至 H 和 Q 的电子转移过程发生明显的变化.

天然紫细菌的高效光电转换功能是天线蛋白同反应中心蛋白及有关电子传递介质协同作用的结果. 如果我们能在人工条件下, 复制这种高效光电转换过程, 那无疑是具有重要的应用价值. 孔继烈等根据“酸碱对自调节”法合成了虫洞结构的介孔  $WO_3 - TiO_2$ , 并将其应用于吸附固定 RC, 制备纳米半导体

