

МИГРАЦИЯ ЭНЕРГИИ ЭЛЕКТРОННОГО ВОЗБУЖДЕНИЯ МЕЖДУ РОДАМИНОМ 6Ж И ТИОНИНОМ В РАСТВОРАХ ДЕТЕРГЕНТА

Э. ЛЕХОЦКИ* и Я. ХЕВЕШИ

Кафедра биофизики университета им. Аттилы Йожефа, Сегед

(Поступило в Редакцию 2 мая 1972 г.)

Исследовалась миграция энергии электронного возбуждения в смешанных растворах, содержащих $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л родамина 6Ж, от $2 \cdot 10^{-6}$ до $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л тионина и от $2 \cdot 10^{-3}$ до $6 \cdot 10^{-3}$ моль/л натрий-лаурилсульфата. Установили, что максимальная эффективность передачи энергии во всех сериях растворов находится в области критической концентрации мицеллообразования детергента. Максимальная величина переноса энергии электронного возбуждения ($Q_{\text{макс}}$) с повышением концентрации тионина сдвигается в сторону более высоких концентраций детергента и увеличивается по абсолютной величине. Эффективность передачи возбуждающей энергии достигает максимума если в мицеллах находится в среднем 12—20 молекул красителей и среднее расстояние между которыми составляет 25—40 Å.

По общепринятой теории фотосинтеза, поглощенная гетерогенной пигментной системой световая энергия передается на т. н. реакционные центры [1, 2]. Исследование механизма переноса энергии электронного возбуждения и его зависимость от различных факторов на сложных *in vivo* системах довольно трудная задача. Поэтому для изучения миграции энергии часто применяются различные модельные системы [3—6].

В наших исследованиях для изучения переноса энергии электронного возбуждения использовался хорошо растворимый в воде анионный детергент (натрий-лаурилсульфат: SLS) в качестве модельной системы. Детергент при определенной концентрации, названной „критической концентрацией мицеллообразования” (ККМ), в растворе образует мицеллы [7]. Если в растворы, содержащие мицеллы, внести красители, тогда последние адсорбируются мицеллами детергента и образуется такая модельная система, структура которой показывает большое сходство с ламеллярной структурой хлоропластов. В таких модельных системах ранее были исследованы абсорбционные и люминесцентные свойства системы тионина и метиленового голубого, родамина 6Ж и тионина, а также передачи возбуждающей энергии, происходящей в их эквимольных растворах [8—10].

В данной работе описываются результаты исследования люминесцентных свойств смешанных растворов, в зависимости от концентрации детергента (при 25 °C), содержащих родамин 6Ж и различные концентрации акцептора

* Место работы: Институт биофизики, Биологический научно-исследовательский центр Академии наук Венгрии, Сегед.

энергии электронного возбуждения — тионина. При обсуждении экспериментальных данных мы стремились установить, какая связь существует между эффективностью передачи возбуждающей энергии и концентрацией детергента при данной концентрации красителей, а также обнаружить связь при определенной концентрации детергента, между концентрацией красителей и структурой модельной системы.

Исследуемые системы и методы проведения измерений

В исследуемых смешанных растворах концентрация родамина 6Ж (Rh), донора возбуждающей энергии была постоянная $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л. Концентрация акцептора возбуждающей энергии, тионина (Th) менялась от $2 \cdot 10^{-6}$ до $1 \cdot 10^{-4}$ моль/л, а концентрация детергента варьировалась от $2 \cdot 10^{-3}$ до $6 \cdot 10^{-3}$ моль/л. Методы приготовления растворов, измерения спектров поглощения и люминесценции и способ расчетов истинных спектров люминесценции приведены в работах [7—10]. Для возбуждения родамина 6Ж использовали линию ртути $\lambda_{\text{возб}} = 436$ нм. При таком возбуждении интенсивность флуоресценции тионина составляла в зависимости от концентрации Th, всего 1—5% от величины, получаемой при $\lambda_{\text{возб}} = 546$ нм. Таким образом, в смешанных растворах эффективность переноса возбуждающей энергии можно изучать, наблюдая тушение флуоресценции донора и увеличение интенсивности сенсibilизированной флуоресценции акцептора.

Изложение и обсуждение полученных экспериментальных результатов

На рис. 1 показаны спектры флуоресценции донора возбуждающей энергии, родамина 6Ж в зависимости от концентрации детергента. Из рисунка видно, что максимум флуоресценции родамина 6Ж в присутствии SLS сдвигается на 5 нм в сторону более длинных волн. При увеличении концентрации детергента интенсивность флуоресценции резко увеличивается, однако спектральное распределение флуоресценции не меняется. Подобные закономерности наблюдались при исследовании флуоресцентных свойств тионина [10].

Спектры флуоресценции смешанных растворов в воде приведены на рис. 2. Из изменения интенсивности сенсibilизированной флуоресценции хорошо видно, что с увеличением концентрации акцептора возбуждающей энергии увеличивается эффективность передачи энергии, хотя ее величина незначительная даже при наиболее высокой концентрации тионина.

При добавлении малого количества детергента SLS интенсивность флуоресценции донора и смешанных растворов сильно уменьшается вследствие образования в растворе в довольно большом количестве различных не флуоресцирующих комплексов красителей и красителя-детергента [9, 11, 12]. Этим объясняется тот факт, что при невысоких концентрациях детергента эффективность передачи возбуждающей энергии небольшая. При увеличении концентрации детергента в области ККМ образуются мицеллы, имеющие ламеллярную структуру, вследствие чего комплексы красителей растворяются и интен-

сивность флуоресценции смешанных растворов увеличивается. В этом случае интенсивность флуоресценции родамина 6Ж зависит от эффективности передачи энергии, что характеризуется интенсивностью сенсibilизированной флуоресценцией тионина. Подробное изучение таких систем в эквимольных

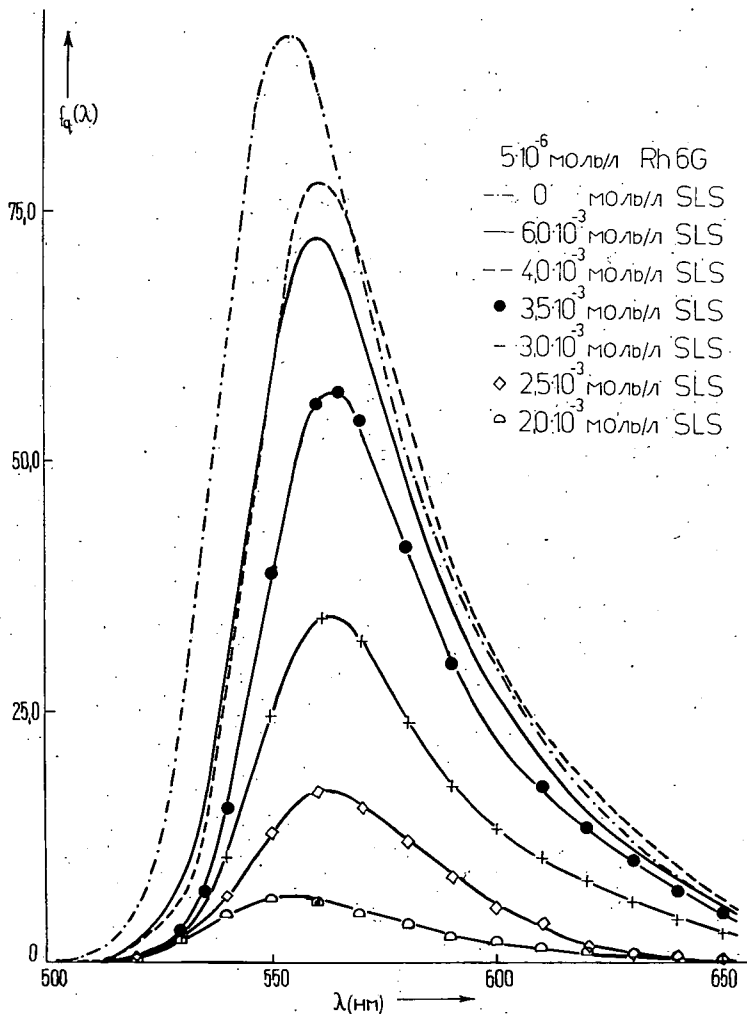


Рис. 1. Спектры флуоресценции $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л родамина 6Ж при различных концентрациях детергента

растворах родамина 6Ж — тионина и тионина — метиленового голубого описаны в работах [8, 10].

При более высоких концентрациях детергента в растворе увеличивается количество мицелл [11] и следовательно, красители присутствующие в отно-

сительно больших концентрациях, распределены равномерно и их подавляющая часть находится в мономерной форме. В соответствии с этим наблюдается дальнейшее увеличение интенсивности флуоресценции. Таким образом и при относительно высоких концентрациях красителей создается благопри-

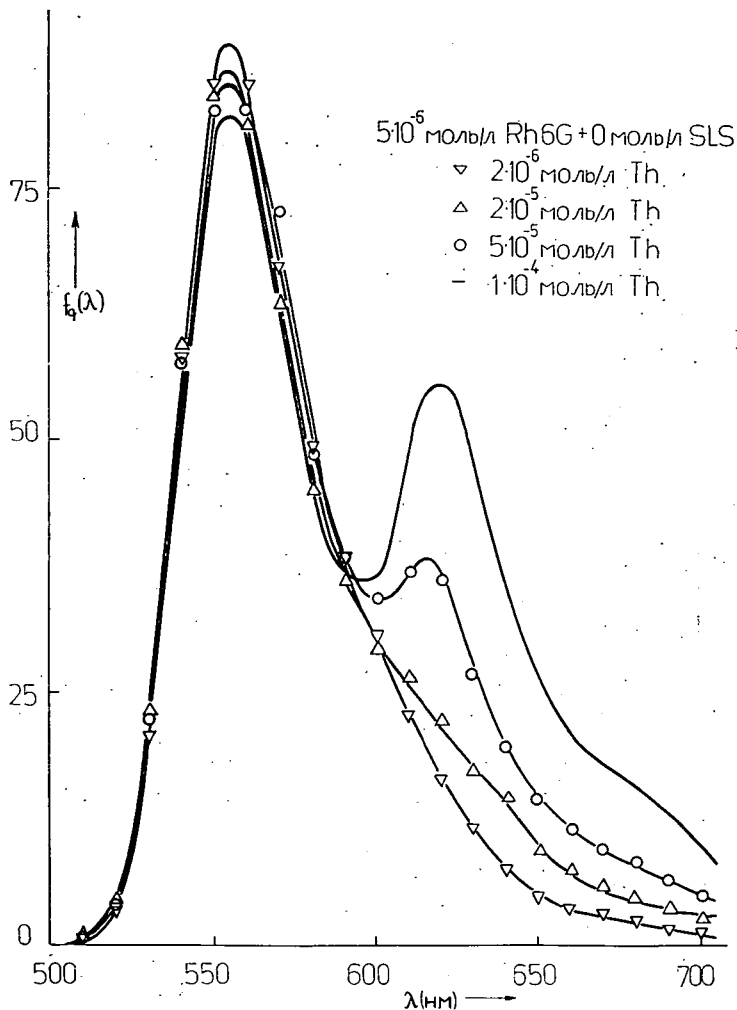


Рис. 2. Спектры флуоресценции смешанных растворов в воде

ятные условия для передачи возбуждающей энергии. На рис. 3 показаны спектры флуоресценции смешанных растворов при концентрации $6 \cdot 10^{-3}$ моль/л детергента и хорошо видно, что с увеличением концентрации акцептора значительно возрастает интенсивность сенсibilизированной флуоресценции тионина.

В табл. № 1 показаны значения (Q), характеризующие эффективность передачи возбуждающей энергии, для всех исследованных систем. Значения (Q) получены из нормированных, при максимуме родамина 6Ж, спектров флуоресценции смешанных растворов. Находили значения флуоресценции при 620 нм, соответствующие максимуму флуоресценции тионина. В таблице представлены эти величины в зависимости от концентрации тионина и детергента.

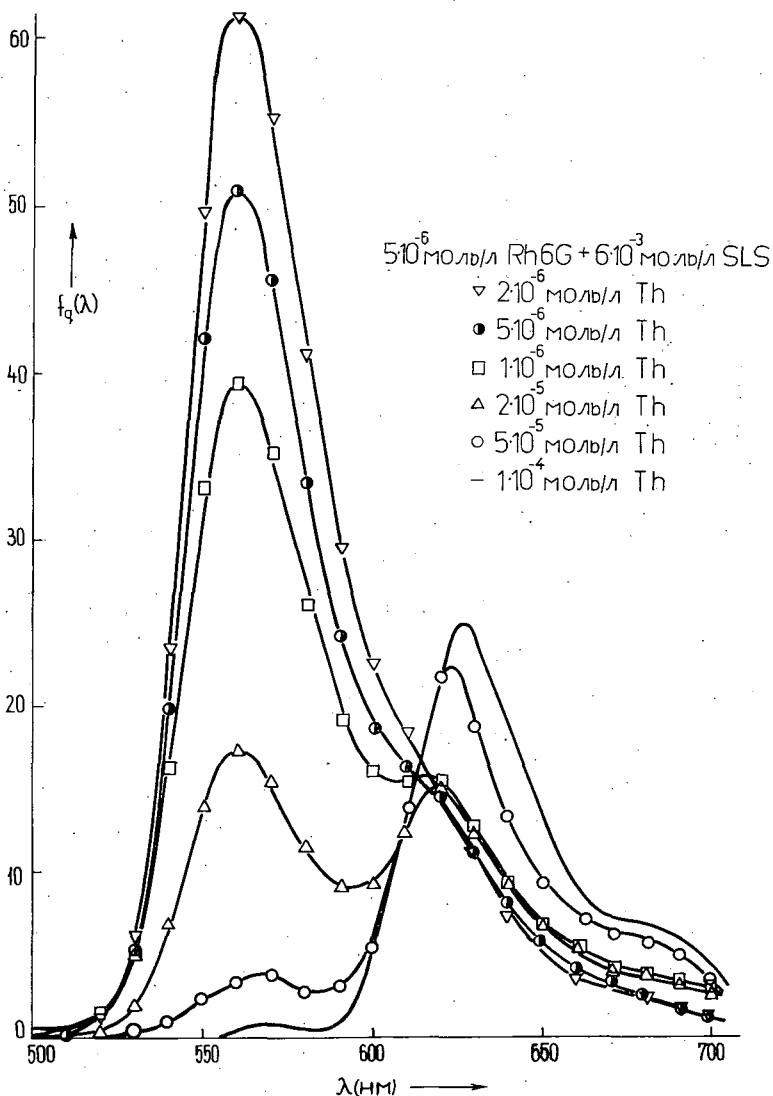


Рис. 3. Спектры флуоресценции смешанных растворов, содержащих $6 \cdot 10^{-3}$ моль/л детергента

Таблица I

Величины эффективности передачи возбуждающей энергии при различных концентрациях детергента и тионина

C_{Th} (моль/л)	$2 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-6}$	$1 \cdot 10^{-5}$	$2 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$1 \cdot 10^{-4}$	
	(Q)						
$C_{SLS} 10^3$ (моль/л)	0	0.21	0.23	0.25	0.29	0.42	0.63
2.0	0.34	0.32	0.27	0.49	—	—	
2.5	0.51	0.52	0.46	0.69	—	—	
3.0	1.03	0.75	0.77	1.08	—	—	
3.5	0.74	1.65	1.03	1.74	—	—	
4.0	0.38	0.90	2.27	3.90	4.50	—	
6.0	0.26	0.31	0.41	0.79	6.10	29.9	

Из данных таблицы видно, что во всех сериях растворов найдется одна такая концентрация детергента при которой величина эффективности миграции возбуждающей энергии достигает максимального значения. Хорошо видно так же и то, что это максимальное значение с увеличением концентрации Th постепенно перемещается в сторону более высоких концентраций детергента. При высоких концентрациях красителей и небольших концентраций детергента вследствие сильной агрегации красителей наблюдается полное тушение флуоресценции [11, 12], поэтому отсутствуют отдельные данные в таблице.

В смешанных растворах взаимосвязь между эффективностью передачи возбуждающей энергии и концентрацией детергента можно подробнее изучить если значения (Q) графически изобразить в зависимости от концентрации детергента (рис. 4). Из рисунка видно, что эффективность переноса энергии увеличивается с повышением концентрации тионина. Это увеличение и смещение максимальных значений в сторону более высоких концентраций детергента можно легко понять, принимая во внимание результаты определения значения ККМ, измерения спектров поглощения и распределения красителей в мицеллах [7, 8, 11]. Из рис. 4 видно также, что максимальные значения эффективности передачи возбуждающей энергии при всех концентрациях акцептора находятся в области ККМ ($2 \cdot 10^{-6}$ моль/л— $3.0 \cdot 10^{-3}$ моль/л SLS; $5 \cdot 10^{-6}$ моль/л Th— $3.5 \cdot 10^{-3}$ моль/л SLS; $1 \cdot 10^{-5}$ и $2 \cdot 10^{-5}$ моль/л Th— $4 \cdot 10^{-3}$ моль/л SLS). Эти результаты указывают на то, что благоприятные условия для переноса энергии в применяемой модельной системе создаются если в растворе мицеллы присутствуют в довольно большом количестве, то-есть тогда, когда сформируется характерная ламеллярная структура мицелл. На основе исследования спектров поглощения можно прийти к выводу, что при определенной концентрации красителей эффективность передачи энергии достигает мак-

симального значения (Q)_{макс.}. При этой концентрации детергента образование агрегатов красителей и комплексов красителя-детергента не наблюдается или незначительное [11, 12].

На основе результатов измерения электропроводности растворов можно рассчитать среднее число молекул красителей, приходящихся на одну мицеллу

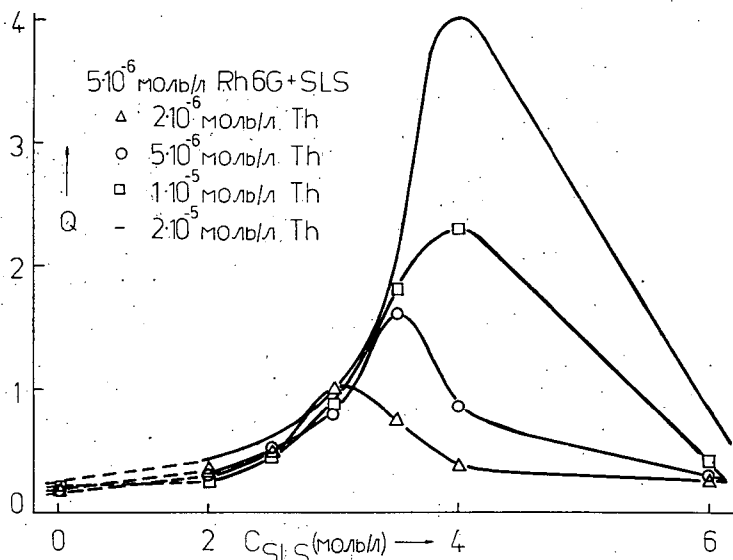


Рис. 4. Эффективность переноса энергии (Q) при различных концентрациях тионина в зависимости от концентрации детергента

и расстояние между молекулами красителей в мицелле при концентрации детергента, соответствующей максимальной величине эффективности переноса возбуждающей энергии [6, 11, 13]. Данные расчетов показывают [11], что с точки зрения эффективности миграции энергии во всех сериях растворов существует одно оптимальное соотношение между числом и расстоянием молекул красителей в одной мицелле. Максимальная эффективность передачи энергии достигается в том случае, когда в одной мицелле находится 12—20 молекул красителей и среднее расстояние между которыми составляет 25—40 Å. При уменьшении расстояния между молекулами красителей, величина эффективности передачи энергии снижается вследствие молекулярных взаимодействий, приводящих к образованию агрегатов красителей и комплексов красителя-детергента. Увеличение среднего расстояния между молекулами красителей выше оптимального, само собой разумеется, что тоже приводит к уменьшению эффективности переноса энергии.

Помимо того, что максимальная величина эффективности миграция возбуждающей энергии с увеличением концентрации акцептора смещена в сторону более высоких концентраций детергента, она показывает значительное увеличение и по абсолютной величине. Это объясняется тем, что в растворах с повышением концентрации молекул акцептора увеличивается вероятность передачи

возбуждающей энергии от родамина 6Ж, имеющего высокий выход флуоресценции, на тионин. Из данных таблицы видно также, что максимальная величина (Q) в растворе детергента, содержащем только $2 \cdot 10^{-6}$ моль/л Th уже значительно превышает (Q) самого концентрированного водного раствора тионина. С одной стороны, это объясняется тем, что в растворе детергента

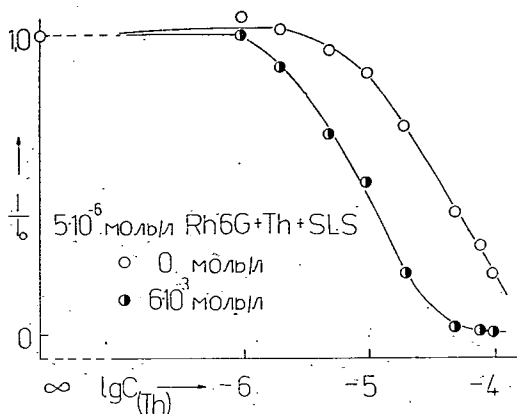


Рис. 5. Относительная эффективность передачи возбуждающей энергии в растворах, содержащих 0 и $6 \cdot 10^{-3}$ моль/л детергента в зависимости от концентрации тионина

с образованием мицелл и адсорбцией ими красителей в этой системе возникает определенная упорядоченность, с другой стороны, тем, что в растворах, содержащих мицеллы, красители имеют высокую локальную концентрацию, которая по нашим приближенным расчетам на 2—3 порядка может быть выше, чем концентрация красителей в объеме раствора [11].

Для характеристики различий в эффективности передачи возбуждающей энергии, происходящей в смешанных растворах, можно использовать данные относительно выхода флуоресценции (V -отн.) в зависимости от концентрации акцептора. На рис. 5 показаны кривые, практически совпадающие с ходом кривой V/V_0 , относительной интенсивности I/I_0 при максимуме флуоресценции родамина 6Ж в зависимости от концентрации тионина для двух серий смешанных растворов, водных и содержащих $6 \cdot 10^{-3}$ моль/л детергента. Из рис. 5 видно, что ход кривых тушения флуоресценции сильно различается для двух серий растворов. Из хода кривых обнаруживается благоприятное влияние присутствующие в растворе мицелл на эффективность переноса возбуждающей энергии.

Данные экспериментов показывают, что исследованные системы могут служить эффективной моделью для изучения миграции возбуждающей энергии, происходящей в ламеллах хлоропластов. Однако для детального выяснения механизма передачи энергии необходимы дальнейшие исследования.

*

Авторы выражают признательность профессору Л. Салаи за постоянную поддержку в работе и полезное обсуждение результатов.

Литература

- [1] *Duysens, L. N. M.*: Progress in Biophysics **14**, 1 (1964).
- [2] *Boriszov, A. Yu.*: Usp. Szov. Biol. **68**, 210 (1968).
- [3] *Teale, F. W. I.*: Nature **181**, 416 (1958).
- [4] *Kelly, A. R., G. Porter*: Proc. Roy. Soc. Lond. **A315**, 149 (1970).
- [5] *Cellarius, R. A., D. Manzerall*: Biochim. Biophys. Acta **112**, 235 (1966).

- [6] *Singhal, G. S., E. Rabinowitch, J. Hevesi, V. Srinivasan*: Photochem. Photobiology. **11**, 531 (1970).
- [7] *Hevesi, J., E. Lehoczki, E. Bálint*: Zh. Prikl. Spectr. **13**, 458 (1970).
- [8] *Hevesi, J., E. Bálint, E. Lehoczki*: Acta Phys. Polon. Sci. **A38**, 829 (1971).
- [9] *Bálint, E., E. Lehoczki, J. Hevesi*: Acta Phys. et Chem. Szeged **17**, 15 (1971).
- [10] *Lehoczki, E., J. Hevesi, E. Bálint*: Zh. Prikl. Spectr. **16**, 97 (1972).
- [11] *Lehoczki, E., J. Hevesi*: Acta Phys. et Chem. Szeged **18**, 11 (1972).
- [12] *Hevesi, J., Zs. Rózsa*: Acta Phys. et Chem. Szeged **17**, 127 (1971).
- [13] *Mukarjee, P., K. J. Mysels*: J. Am. Chem. Soc. **77**, 2937 (1955).

MIGRATION OF EXCITATION ENERGY BETWEEN RHODAMINE 6 G AND THIONIN IN DETERGENT SOLUTIONS

E. Lehoczki and J. Hevesi

Migration of excitation energy was investigated in mixed solutions of $5 \cdot 10^{-6}$ M Rhodamine 6 G and $2 \cdot 10^{-6}$ to $1 \cdot 10^{-4}$ M Thionin containing sodium laurylsulphate of different concentrations up to $6 \cdot 10^{-3}$ M. The maximum effectivity of migration exists in solutions of the critical micelle concentration range. With the increase of the acceptor concentration the maximum shifts towards higher detergent concentrations and its value increases, too.