

А. А. КРАСНОВСКИЙ и Г. П. БРИН

ОПТИЧЕСКИЕ И ФОТОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ХЛОРОФИЛЛА В РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ СВЯЗИ

(Представлено академиком А. Н. Терениным 7 IX 1948)

В соответствии с представлениями, впервые развитыми М. С. Цветом⁽¹⁾ и В. Н. Любименко⁽²⁾, обычно принимают, что хлорофилл в пластиде связан с белком^(3, 4). Однако донныне с полной определенностью не установлено, что этим исчерпываются возможные состояния хлорофилла в растении^(5, 6).

Для получения опытных данных по этому вопросу нами произведено систематическое исследование оптических и фотохимических свойств хлорофилла (a+b) в различных формах и в естественном состоянии.

Спектры поглощения объектов измерялись с помощью спектрофотометра Бекмана (модель DU). Флуоресценция наблюдалась через красный фильтр RG-2 при возбуждении группой ртутных линий при 366 м μ . Фотохимическая активность в большинстве случаев исследовалась методом измерения сенсibilизированного окисления аскорбиновой кислоты кислородом, описанным нами ранее⁽⁷⁾; реакция проводилась при рН = 7,5 в фосфатном буфере. В табл. 1 активность выражена отношением количества куб. миллиметров кислорода, поглощенного за 30 мин. в условиях опыта, к средней величине коэффициента погашения раствора до и после реакции в красном максимуме поглощения хлорофилла. В табл. 1 дается краткая сводка полученного опытного материала.

Рассмотрение табл. 1 показывает, что ни одна из отдельно взятых модельных систем не воспроизводит полностью оптических свойств хлорофилла в листе — сдвига красного максимума поглощения при сохранении флуоресценции. С другой стороны, спектральные свойства живых фотосинтезирующих систем свидетельствуют о том, что хлорофилл в них находится не в одной форме. Нам удалось наблюдать у живых листьев ряда растений наличие двух максимумов: при 677—678 м μ и при 665—670 м μ . Состояние хлорофилла, соответствующее главному максимуму, нарушается при ряде воздействий на живой лист и переходит в состояние, характеризующееся поглощением при 670 м μ .

Наиболее явно это явление выражено у фотосинтезирующих бактерий, где удалось наблюдать три отчетливых максимума поглощения бактерио-хлорофилла в инфракрасной области спектра, переходящих в один максимум (наиболее коротковолновый) при нагревании бактериальной суспензии⁽¹²⁾ — явление, подобное перемещению максимума поглощения листа при его нагревании; при этом хлорофилл, повидимому, переходит в наиболее устойчивое растворенное состояние; денатурация листа глубоким охлаждением не приводит к подобному изменению.

Какова природа различных форм хлорофилла в растении? Маловероятно, чтобы это были химически отличные формы; исследование

Таблица 1

С о с т о я н и е	Положение красного максимума, в м μ	Флуоресценция	Фотохимическая активность в относительн. ед.
Растворы в органических растворителях .	660—670	+++	Активны (? , ⁸)
Растворы в жирных кислотах, растительных маслах, лецитине, водные эмульсионные растворы в липоидах	668—670	+++	Активны
Коллоидные растворы, полученные разбавлением спиртовых растворов водой .	670	—	Неактивны
Коллоидные растворы, коагулированные электролитами по Д. И. Ивановскому (⁵); положение максимума зависит от степени коагуляции	670—690	—	Неактивны
Коллоидные растворы, полученные разбавлением спиртовых растворов (водными растворами детергентов катионоидного, анионоидного и нейтрального)*	668—670	+++	2400—3500
Хлорофилл, адсорбированный на парафине, пальмитиновой кислоте и окиси магния	668—670 (п)	++	—
Хлорофилл, адсорбированный на окислах алюминия, титана, цинка, кремния и др.	668—670 (п)	—	—
Хлорофилл, адсорбированный на спирторастворимых белках — зеине и глиадине (см. также (⁹ , ¹⁰)). Коллоидные растворы адсорбатов получались разбавлением водой спиртовых растворов хлорофилла с белком	668—670	—	Неактивны
Хлорофилл, адсорбированный на других белках: эдестине, фиброне шелка, кератине шерсти, яичном альбумине и пр. .	670 (п)	—	—
Коллоидные водные хлорофилл-белковые растворы, полученные с помощью трех типов детергентов и перечисленных выше типов белка	668—670	+++	2600—3500
Твердые пленки хлорофилла, полученные испарением спиртовых растворов на стекле и фильтровальной бумаге	670 (п)	—	—
Живые листья, суспензии хлоропластов и гранул (главный максимум) (см. также (¹¹))	677—678	+	При реакциях сенсибилизированного окисления малоактивны
Лист фасоли, убитый кипячением в воде .	670	+	
Лист фасоли, убитый замораживанием жидким воздухом	678	+	
Хлоропласты и гранулы в водных растворах трех типов детергентов	668—670	+++	1000—2000

* Образцы детергентов: гериаль ВФ, сульфанол и гепаль В были нам любезно предоставлены А. Г. Пасынским.

Примечания: Знак + приближенно характеризует интенсивность флуоресценции по трехбалльной шкале, — отсутствие наблюдаемой флуоресценции, — в графе «фотохимическая активность» указывает на отсутствие измерений. Знак (п) указывает на приближенность измерения вследствие размытости максимума (при измерении порошка).

обратимых реакций хлорофилла и его поведения в активных средах не позволило получить данных о наличии химически измененных форм, обладающих максимумом поглощения, смещенным на 10—12 м μ в красную сторону спектра (⁶).

В то же время коллоидные нефлуоресцирующие формы хлорофилла обладают максимумом, лежащим в области от 670 до 690 м μ . Вообще,

следует считать возможным подобное смещение максимума поглощения хлорофилла и при адсорбции, хотя полученные доныне искусственные хлорофилл-белковые соединения обладают максимумом, лежащим в области 670 м μ .

Из модельных опытов, приведенных выше, следует, что флуоресценцией и фотохимической активностью хлорофилл обладает лишь в молекулярно-дисперсной форме — в растворенном или адсорбированном на мицелле детергента состоянии. Эти формы обладают максимумом поглощения в области 660—670 м μ . Найденные доводы в пользу механизма сенсibiliзирующего действия хлорофилла путем обратимого окисления — восстановления, подобного действию дегидраз (6, 13), предопределяют его существование в двух формах: связанной со специфическим липопротеином и в виде свободного «кофермента». Представление о подвижном равновесии между свободной и связанной формами хлорофилла соответствует впервые высказанному М. С. Цветом (1) представлению об адсорбционном связывании хлорофилла, отличном от устойчивого химического соединения пигмента с белком по типу гемоглобина. Физиологически оправдано существование хлорофилла в третьей — буферной, запасной форме между синтезирующей его системой и фотосинтетическим аппаратом. Этот запас может существовать в виде коллоидного или адсорбированного состояния с поглощением, лежащим в области главного максимума поглощения листа. Следует полагать, что равновесие между тремя возможными формами хлорофилла определяется условиями работы пластиды.

Е. Рабинович в своей книге (8) возражает против представления о возможности существования хлорофилла в двух формах — нефлуоресцирующей, определяющей положение максимума поглощения, и флуоресцирующей; он считает, что в этом случае нельзя понять наблюдающийся одинаковый сдвиг в красную сторону максимумов поглощения и флуоресценции, наблюдаемый у живого листа. Мы полагаем, однако, что подобие сдвига можно объяснить, учитывая внутреннюю фильтрующую эффект нефлуоресцирующей фазы; наблюдаема лишь часть спектра флуоресценции, расположенная в более длинноволновой области, чем максимум поглощения нефлуоресцирующей фазы. Считаю нужным отметить в заключение, что представление о трех формах хлорофилла наиболее правдоподобно объясняет лишь известные экспериментальные факты; получение модельного хлорофилл-белкового соединения, обладающего хотя бы оптическими свойствами хлорофилла в листе, внесло бы существенные коррективы в эти представления.

Приносим глубокую благодарность акад. А. Н. Теренину за ценные указания и помощь в работе.

Институт биохимии им. А. Н. Баха
Академии наук СССР

Поступило
11 VI 1948

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ М. С. Цвет, Диссертация, Физико-химическое строение хлорофильного зерна, Казань, 1901; Избр. работы под ред. А. А. Рихтера и Т. А. Красносельской, изд. АН СССР, 1946. ² В. Н. Любименко. Дневник Всеросс. съезда ботаников, Петроград, 1921, стр. 45; Хемосинтез и фотосинтез в растительном мире, Сельхозгиз, 1935, там же литература. ³ Е. Р. Гюббенет, Природа, 35, № 11, 68 (1947). ⁴ Т. Н. Годнев и О. Н. Осипова, ДАН, 57, 161 (1947). ⁵ Д. И. Ивановский, О физическом состоянии хлорофилла в живых листьях, Варшава, 1913. ⁶ А. А. Красновский, Изв. АН СССР, сер. биол., № 3, 377 (1947); Докторск. диссертация, Ин-т биохимии им. А. Н. Баха АН СССР, 1948. ⁷ А. А. Красновский и Г. П. Брин, ДАН, 53, 447 (1946); 58, 1087 (1947). ⁸ E. Rabinowitsch, Photosynthesis and Related Processes, 1, N. Y., 1945. ⁹ О. П. Осипова, ДАН, 57, 371 (1947). ¹⁰ М. П. Знаменская и О. П. Осипова, ДАН, 57, 705 (1947), ¹¹ А. А. Ильина, ЖФХ, 21, 145 (1947); Э. В. Шпольский, Усп. физ. наук, 29, 221 (1946). ¹² E. Katz u. E. Wassink, Enzymol., 7, 97 (1939). ¹³ А. А. Красновский, ДАН, 60, № 3 (1948); 61, № 1 (1948).