

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

В. Б. ЕВСТИГНЕЕВ, В. А. ГАВРИЛОВА и А. А. КРАСНОВСКИЙ

**О ТУШЕНИИ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ХЛОРОФИЛЛА И ФТАЛОЦИАНИНА МАГНИЯ И ВЗАИМОДЕЙСТВИИ ИХ С ТУШАЩИМИ ВЕЩЕСТВАМИ**

(Представлено академиком А. Н. Терениным 4 VII 1950)

Исследование тушения флуоресценции красителей посторонними молекулами и взаимодействия тушителей с флуоресцирующим веществом необходимо для выяснения природы фотохимического действия красителей и, в частности, хлорофилла.

В нашем сообщении<sup>(1)</sup> были приведены данные о тушении флуоресценции фталоцианина магния в спиртовом растворе, из которых следует, что более сильным тушащим действием обладают молекулы окислители.

Ливингстон и Чун-Лин-хе<sup>(2)</sup> пришли к тем же выводам для растворов хлорофилла в метаноле в опытах с большим количеством различных соединений.

В данном сообщении излагаются результаты исследований о влиянии ряда веществ на интенсивность флуоресценции растворов хлорофилла (*a* + *b*) и фталоцианина Mg в разных средах: в толуоле\*, этаноле и пиридине, и о взаимодействии тушителя с молекулами пигмента.

Флуоресценцию возбуждали в области максимума поглощения указанных соединений в красной области спектра и интенсивность ее измеряли методом, описанным ранее<sup>(1)</sup>. Растворы помещались в вакуумных пробирках особой формы, приспособленных для непосредственных измерений поглощения на спектрофотометре. Растворенный кислород удаляли откачкой масляным насосом при кипении растворителя.

В табл. 1 приведены данные, показывающие изменение интенсивности флуоресценции и величины поглощения в красном максимуме раствора вышеуказанных пигментов под действием соединений различной химической природы. Концентрация последних во всех случаях, за исключением особо отмеченных, составляла 0,1 *M* на 1 л.

Величины поглощения *E*, показанные в табл. 1, измерены на фотоэлектрическом спектрофотометре, прямо в пробирках.

Данные табл. 1 подтверждают ранее сделанный только для спиртовых растворов вывод, что более сильное тушающее действие на флуоресценцию хлорофилла и фталоцианина магния оказывают окислители.

Восстановители обычно или совсем не уменьшают интенсивность флуоресценции или же их действие значительно слабее.

О взаимодействии молекул тушителя с пигментом можно судить прежде всего по изменению положения и относительной величины максимумов спектральной кривой поглощения.

\* Раствор фталоцианина Mg в толуоле приготовлен через эфир, как описано ранее<sup>(6)</sup>.

Сильно тушащие флуоресценцию окислители, хинон и кислород, практически не изменяют вида спектра поглощения пигментов в обычных растворителях, тогда как в случае иода и динитробензола величина поглощения в красном максимуме заметно уменьшается, что говорит о возможности в этом случае химического взаимодействия. Таким образом, следует думать, что в различных случаях тушения окислителями имеет место различный механизм процесса тушения.

Для исследования вопроса о связи между тушением флуоресценции и способностью к фототехническому взаимодействию между молекулами хлорофилла и тушителя в том случае, когда они, очевидно, не реагируют друг с другом в темновых условиях, о чем можно судить по неизменности спектра поглощения, нами были поставлены следующие опыты.

Растворы хлорофилла, содержащие хинон, гидрохинон или аскорбиновую кислоту, освобожденные от кислорода откачкой на масляном

Таблица 1

Изменение интенсивности флуоресценции и величины поглощения в красном максимуме растворов хлорофилла ( $a+b$ ) и фталоцианина в результате прибавления посторонних веществ

Прибавленное вещество	Раство-	Хлорофилл ( $a+b$ )					Фталоцианин магния				
		$I_1$	$I_2$	% туш.	$E_1^*$	$E_2$	$I_1$	$I_2$	% туш.	$E_1^*$	$E_2$
Нитробензол . . . . .	Этанол	42,5	13,6	68	0,484	0,479	66,5	20	70	0,495	0,486
<i>m</i> -динитробензол . . . . .	То же	42,5	5,5	87	0,458	0,393	65,5	9,0	86	0,492	0,469
<i>J</i> <sub>2</sub> (0,005 M) . . . . .	"	42,7	19,9	53	0,650	0,550	71,4	29,8	58	—	—
Аскорбиновая кислота . . . . .	"	46,1	46,1	0	0,409	0,409	53,0	54,0	0	0,390	0,392
Бензойная кислота . . . . .	"	45,0	45,0	0	0,486	0,483	69,0	69,0	0	0,494	0,509
Анилин . . . . .	"	44,5	45,0	0	0,480	0,473	65,1	50,0	23	0,498	0,491
Диметиланилин . . . . .	"	35,4	25,5	28	0,780	0,750	62,5	18,4	71	0,477	0,462
Фенол . . . . .	"	45,0	45,0	0	—	—	68,0	68,0	0	0,498	0,491
Бензальдегид . . . . .	"	42,0	42,0	0	0,480	0,455	67,0	67,0	0	0,495	0,481
Пирокатехин . . . . .	"	46,0	47,0	0	0,470	0,470	66,5	66,5	0	0,499	0,481
Пирогаллол . . . . .	"	46,0	46,0	0	0,480	0,478	68,5	66,5	3	0,489	0,485
Фенилгидразин соляно-											
кий (0,05 M) . . . . .	"	47,0	43,0	8	0,462	0,456	66,0	66,0	0	0,528	0,510
<i>n</i> -хинон . . . . .	Пири-										
	дин	49,2	2,7	94,5	0,660	0,660	44,6	1,7	96	0,648	0,643
Гидрохинон . . . . .	То же	49,1	50,2	0	0,650	0,648	44,1	41,6	6	0,655	0,646
Нитробензол . . . . .	"	48,0	30,2	37	0,640	0,614	43,8	30,2	31	0,675	0,661
<i>m</i> -динитробензол . . . . .	"	47,4	10,4	78	0,620	0,594	45,3	6,5	86	0,671	0,645
Анилин . . . . .	"	45,0	44,9	0	0,620	0,605	44,0	42,1	4	0,656	0,646
Диметиланилин . . . . .	"	45,2	44,4	2	0,612	0,593	43,3	27,3	37	0,661	0,627
Аскорбиновая кислота . . . . .	"	44,0	44,0	0	0,480	0,480	—	—	—	—	—
<i>n</i> -хинон . . . . .	Толу-										
	ол	49,1	3,3	93	0,680	0,683	48,0	2,0	96	0,570	0,560
Нитробензол . . . . .	То же	47,1	33,5	29	0,675	0,663	48,0	24,0	50	0,590	0,581
<i>m</i> -динитробензол . . . . .	"	49,2	11,7	75	0,655	0,611	48,0	10,0	81	0,592	0,562
Анилин . . . . .	"	47,5	48,0	0	0,648	0,641	48,0	49,0	0	0,583	0,576
Диметиланилин . . . . .	"	46,1	47,5	0	0,647	0,630	47	39	17	0,586	0,568

Примечание.  $I_1$  — интенсивность флуоресценции в условных единицах;  $E_1$  — поглощение в максимуме для чистого раствора;  $I_2$  и  $E_2$  — то же для раствора, содержащего постороннее вещество.

\* Положение красного максимума для растворов в этаноле: хлорофилла 665 мк, фталоцианина магния 668 мк; в пиридине соответственно: 670 и 673 мк; в толуоле 665 и 672 мк.

насосе при кипении, подвергались в течение 9 мин. действию излучения 500-вт кинолампы на расстоянии 45 см, концентрированного конденсором и прошедшего через красный светофильтр RG-2 толщиной 10 мм.

Результаты опытов, наряду с данными по фотохимическому окислению кислородом воздуха в тех же условиях, приведены в виде кривых на рис. 1. По оси ординат отложена величина поглощения в красном максимуме в процентах от поглощения неосвещенного

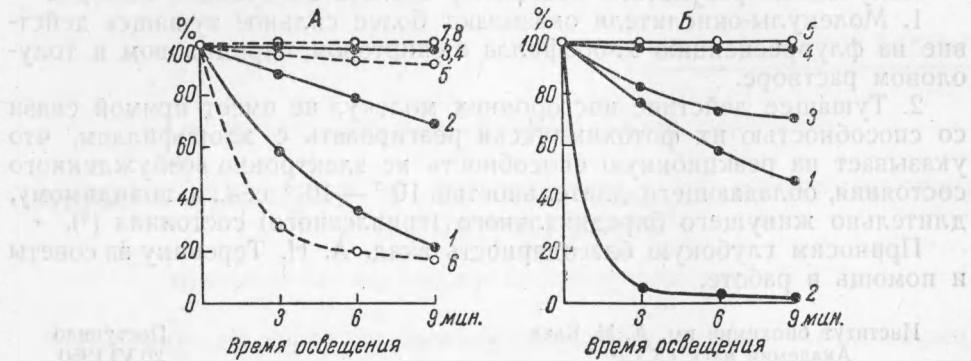


Рис. 1. Фотохимические реакции хлорофилла. А. В этаноле: 1 —  $O_2$ , 2 — аскорбиновая кислота, 3 — хинон, 4 — гидрохинон, 7 — чистый раствор. В толуоле: 5 — хинон, 6 —  $O_2$ , 8 — чистый раствор. Б. В пиридине: 1 —  $O_2$ , 2 — аскорбиновая кислота, 3 — хинон, 4 — гидрохинон, 5 — чистый раствор

раствора. Эти данные свидетельствуют о том, что не существует прямой связи между тушением флуоресценции и способностью к фотохимическому взаимодействию хлорофилла с тушителем. Например хинон, сильно тушащий флуоресценцию, почти не реагирует фотохимически с хлорофиллом в спиртовом и толуоловом растворах. Аскорбиновая кислота, не влияющая на интенсивность флуоресценции хлорофилла, реагирует значительно быстрее, чем хинон, в спирте и очень быстро в пиридине.

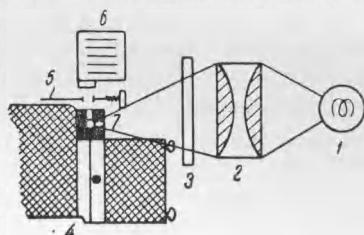


Рис. 2. Расположение приборов при опытах с боковым освещением. 1 — кинолампа 500 вт, 2 — конденсор, 3 — светофильтр RG-2, 4 — спектрофотометр, 5 — оптическая щель, 6 — осветитель спектрофотометра, 7 — стойка для пробирки с раствором

Хотя фотопреакция хлорофилла с аскорбиновой кислотой в пиридине является обратимым фотовосстановлением (<sup>4</sup>), относительная медленность обратной реакции в анаэробных условиях дает возможность судить о ходе фотопреакции по измерению  $E$  после выключения света.

Для проверки того, не происходит ли между сильным тушителем, не изменяющим вида спектра поглощения хлорофилла и красителя, очень быстро протекающая обратимая химическая реакция, которая и является причиной тушения, нами был поставлен опыт с наблюдением за изменением поглощения растворов хлорофилла (а + б) (в концентрации около  $10^{-5} M/l$ ) в спирте, пиридине и толуоле, содержащих хинон в концентрации  $0,1 M/l$ , при освещении их сильным светом, направленным перпендикулярно лучу света монохроматора спектрофотометра. Расположение приборов показано на рис. 2.

Для того чтобы избежать ошибок из-за рассеянного света и флуоресценции, боковое освещение раствора велось через красный светофильтр (RG-2), пропускающий длины волн больше 620 м $\mu$ , а наблюдение за изменением поглощения в области второго максимума хлорофилла при 430—440 м $\mu$ . Опыт показал, что во всех случаях при включении бокового освещения величина поглощения в синем максимуме хлорофилла не менялась, что говорит об отсутствии реакции.

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы.

1. Молекулы-окислители оказывают более сильное тушащее действие на флуоресценцию хлорофилла в спиртовом, пиридиновом и толуоловом растворе.

2. Тушащее действие посторонних молекул не имеет прямой связи со способностью их фотохимически реагировать с хлорофиллом, что указывает на реакционную способность не электронно возбужденного состояния, обладающего длительностью  $10^{-7}$ — $10^{-8}$  сек., а, повидимому, длительно живущего бирадикального (триплетного) состояния<sup>(5)</sup>.

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

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

Поступило  
26 VI 1950

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> В. Б. Евстигнеев и А. А. Красновский, ДАН, **60**, 623 (1948). <sup>2</sup> R. Livingston and Chin-Lin Ke, Jougl. Am. Chem. Soc., **72**, 909 (1950). <sup>3</sup> R. Livingston, Photosynthesis in Plants, 1949, p. 184. <sup>4</sup> А. А. Красновский, ДАН, **60**, 421 (1948); А. А. Красновский и Г. П. Брин, ДАН, **67**, 325 (1949); А. А. Красновский, Г. П. Брин и К. К. Войновская, ДАН, **69**, 393 (1949). <sup>5</sup> А. Н. Теренин, Acta physicochim. URSS, **18**, 210 (1943); ЖФХ, **81**, 1 (1944); Фотохимия красителей, М., 1947. <sup>6</sup> В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова и А. А. Красновский, ДАН, **70**, 261, (1950).