

В. Б. ЕВСТИГНЕЕВ и В. А. ГАВРИЛОВА

**ВЛИЯНИЕ НЕКОТОРЫХ ВЕЩЕСТВ НА СКОРОСТЬ  
ФОТООКИСЛЕНИЯ ХЛОРОФИЛЛА а**

*(Представлено академиком А. Н. Терениным 20 I 1953)*

Окислительно-восстановительные изменения хлорофилла, происходящие под влиянием света, представляют значительный интерес в связи с выяснением роли этого пигмента при фотосинтезе в растениях. Наибольший интерес имеют те фотохимические реакции хлорофилла, которые являются обратимыми, так как весьма вероятно, что участие его в процессе сенсibilизации фотосинтеза заключается в непрерывных изменениях и обратной регенерации (<sup>1</sup>). Однако изучение необратимых окислительных или восстановительных превращений хлорофилла и родственных ему соединений также может дать весьма интересный материал для понимания свойств этого пигмента.

Деструктивное фотохимическое окисление хлорофилла является хорошо известной реакцией, так как растворы его в любом органическом растворителе быстро выцветают на сильном свете в присутствии кислорода (<sup>2</sup>). В пользу окислительного характера этой реакции говорит то, что в отсутствие кислорода растворы хлорофилла гораздо более прочны, хотя вопрос о химизме реакции остается невыясненным. Основные наблюдения над этой реакцией проводились до сих пор или в растворах в полярных растворителях (спирт, ацетон, пиридин и т. п.) или, если применялись такие растворители, как бензол и толуол, то не принимались меры к тому, чтобы в сфере реакции из действующих агентов были только хлорофилл, кислород и растворитель. Недавно (<sup>3-5</sup>) было установлено, что прибавление очень небольших количеств воды и ряда других веществ вызывает сильное изменение свойств хлорофилла и родственных ему соединений (содержащих магний в ядре молекулы), находящихся в растворе в инертных растворителях (бензол, толуол,  $CCl_4$ ), выражающееся в изменении спектра поглощения и интенсивности флуоресценции.

Поэтому интересно было узнать, каким образом влияет присутствие следов этих «активирующих» (<sup>3-5</sup>) веществ на фотохимические свойства хлорофилла, и установить связь между указанными изменениями спектральных свойств хлорофилла и его способностью к фотоокислению. Этот вопрос и явился предметом данной работы.

На рис. 1 представлены схемы использованных установок. Тщательно высушенный воздух пропускаться через узкую трубочку, опущенную в исследуемый растворитель *б*, и насыщался его парами. Затем он впускаться в вакуумный сосуд *б*, содержащий эвакуированный при кипении раствор хлорофилла *а* в тщательно очищенном толуоле. Перед открытием крана сосуда *б* воздух из соединительных трубок повторно выкачивался и заменялся воздухом из осушительной системы.

Фотохимическую реакцию проводили при напряжении тока накала лампы 60 в\*. О ходе ее судили по изменению коэффициента погашения  $K$  раствора в красном максимуме хлорофилла, измеряемом на фотоэлектрическом спектрофотометре. Измерения  $K$  проводились после эвакуации толуолового раствора, после впуска воздуха с парами растворителя и освещения в течение 15 мин. с интервалами в 3 мин.

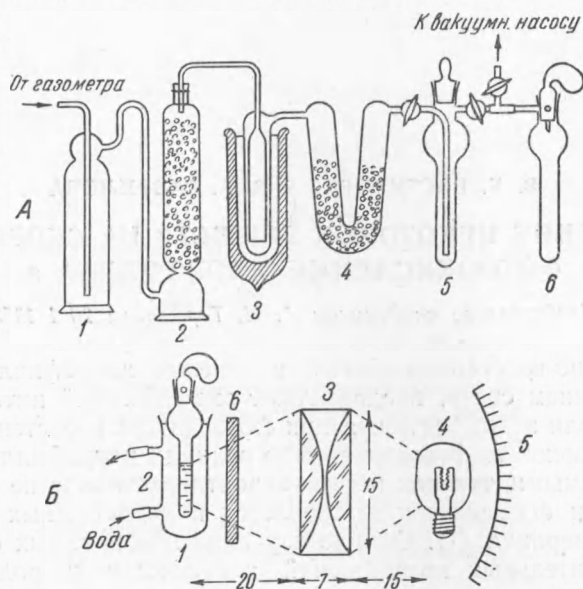


Рис. 1. Схемы использованных установок. А — установка для высушивания воздуха и насыщения его парами используемого растворителя. 1 — серная кислота,  $d = 1,84$ ; 2 — колонки с силикагелем (3 шт.); 3 — ловушка, охлаждаемая жидким воздухом; 4 — трубка с  $P_2O_5$ ; 5 — исследуемый растворитель; 6 — толуоловый раствор хлорофилла. Б — осветительная установка. 1 — термостатирующее устройство; 2 — толуоловый раствор хлорофилла; 3 — конденсор с  $F = 7$  см; 4 — кинолампа 500 вт; 5 — рефлектор; 6 — светофильтр RG-2, 10 мм толщиной. Размеры на чертеже указаны в см

Хлорофилл а был получен хроматографическим разделением смеси хлорофиллов а + б (из крапивы) на колонке из сахарозы. Концентрация раствора в толуоле, с которым проводилась работа, была около  $0,5 \cdot 10^{-5}$  мол/л. Трубка 6 содержала около 6 мл раствора. Исследованные растворители высушивались принятым для каждого из них способом. Для большей гарантии от присутствия влаги сушитель добавлялся также и в то количество сухого растворителя, которое помещалось в трубку 5.

В случае исследования действия уротропина и никотина последние добавлялись прямо в толуоловый раствор перед его эвакуированием (никотина около 0,05 мл, уротропина несколько кристаллов, которые не растворялись). В трубку 6 впускался тогда только сухой воздух. На рис. 2 и в табл. 1 представлены полученные результаты.

Кривые рис. 2 позволяют отметить следующее: 1) в отсутствие кислорода реакция не идет; 2) в присутствии сухого воздуха реакция идет с заметной скоростью, зависящей от интенсивности освещения; 3) присутствие малых количеств различных соединений оказывает различное действие в зависимости от их природы.

\* Уменьшенная интенсивность освещения применялась для понижения скорости реакции. В случае полного накала лампы выводы в принципе остаются теми же.

Таблица 1

Изменение коэффициента погашения  $K$  эвакуированного раствора хлорофилла а в толуоле при впуске сухого воздуха, содержащего пары различных веществ (в красном максимуме поглощения) \*

Сухой воздух	Вещество, пары которого содержатся в воздухе								
	вода	этилов. спирт	ацетон	пиридин	этилов. спирт	пиперидин	анилин	хинолин	никотин**

Эвакуированный раствор хлорофилла

0,640 | 0,501 | 0,492 | 0,470 | 0,515 | 0,512 | 0,460 | 0,460 | 0,410 | 0,638 | 0,675

Раствор после впуска воздуха с парами вещества

0,641 | 0,650 | 0,680 | 0,680 | 0,740 | 0,730 | 0,728 | 0,510 | 0,537 | 0,638 | 0,675

\* Положение красного максимума хлорофилла не зависело от природы добавляемых веществ.

\*\* О способе работы в этих случаях см. в тексте.

Все исследованные вещества можно разбить на три группы: одни сильно ускоряют реакцию фотоокисления по сравнению с действием сухого воздуха (вода, спирт, анилин, хинолин). На первом месте по своему ускоряющему действию стоит вода. Это действие воды обусловлено, очевидно, теми же причинами, что и хорошо известные явления ускорения выцветания других красителей в присутствии влаги (6).

Другие вещества (эфир, ацетон) совсем не оказывают или оказывают только малое влияние.

Третья группа веществ (пиридин, пиперидин, никотин, уротропин) оказывает сильное замедляющее действие; к этой группе относятся вещества, имеющие явно выраженный основной характер. Следует подчеркнуть, что эти вещества оказывают подобное действие независимо от присутствия или отсутствия влаги. Влажный пиридин, например, уменьшал скорость реакции точно в такой же степени, как и сухой. Очевидно, вещества основного характера обладают более сильной способностью вступать в соединение с хлорофиллом и следствием этого полностью препятствуют противоположному влиянию воды. Действие этих веществ как факторов, задерживающих фотоокисление хлорофилла, соответствует их способности создавать условия для его восстановления, что было установлено А. А. Красновским и исследовано в нашей лаборатории.

Разница в действии исследованных веществ на скорость фотохимического окисления хлорофилла не связана, очевидно, с их действием как

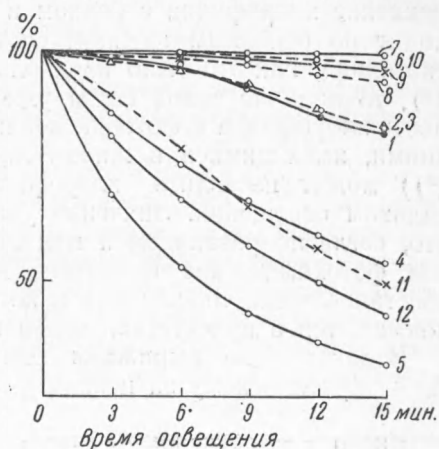


Рис. 2. Фотоокисление хлорофилла в толуоле в присутствии малых количеств различных веществ. 1—сухой воздух без примеси; 2—эфир; 3—ацетон; 4—этанол; 5—вода; 6—пиридин; 7—без воздуха с водой; 8—пиперидин; 9—никотин; 10—уротропин; 11—анилин; 12—хинолин. Ординаты—величина поглощения в красном максимуме хлорофилла, выражена в % от начальной

факторов, усиливающих флуоресценцию и изменяющих вид его спектра, о чем упоминалось выше. Как видно из табл. 1, добавка любого из исследованных веществ к эвакуированному толуоловому раствору хлорофилла сильно повышала коэффициент погашения в красном максимуме хлорофилла. При этом следует отметить, что впускаемый воздух содержал эти вещества в количестве достаточном, чтобы изменение спектра поглощения произошло полностью. Это явствует из сравнения увеличения  $K$  для различных веществ с увеличением  $K$  от впуска влажного воздуха, действие которого хорошо изучено (3-5). Несколько более слабое действие оказывает анилин, что подтверждает его меньшую активирующую способность, уже отмеченную ранее (3).

Независимость друг от друга этих явлений может служить указанием на то, что действие окислителей и действие «активаторов» направлено на различные части молекулы хлорофилла. С другой стороны, следует отметить, что активационное действие и способность к легкому фотоокислению наблюдается только в том случае, когда в молекуле исследуемого пигмента присутствует магний (3, 5). Феофитин, например, несравненно более прочен, чем хлорофилл, в аэробных условиях, а его растворы в инертных растворителях не меняют спектра поглощения и не усиливают флуоресценции при добавлении полярных веществ. Вполне возможно, конечно, что центральный атом магния не является непосредственным участником соответствующих процессов, а его присутствие или отсутствие влияет на свойства молекулы хлорофилла в целом.

Полученные в данной работе выводы о замедляющем действии веществ основного характера на фотоокисление хлорофилла позволяют высказать предположение, что этот факт может частично объяснить светопрочность хлорофилла в живом растении. В самом деле, если соединение хлорофилла с белком в хлорофилл-белковом комплексе происходит по основным группам соответствующих аминокислот, например гистидина, как это было предположено А. А. Красновским и Г. П. Брин (7), то наличия такой связи уже достаточно, чтобы уменьшить способность хлорофилла к фотоокислению. Этот фактор вместе с особыми условиями, имеющимися в живом листе (например, агрегация хлорофилла (8)) может позволить хлорофиллу не разрушаться даже при очень сильном освещении. Значение указанного фактора тем более вероятно, что, согласно развиваемой в нашей лаборатории точке зрения, первичное фотохимическое изменение хлорофилла заключается в его фотовосстановлении, способность к которому, как было уже отмечено, сильно повышается в присутствии оснований.

В заключение выражаем благодарность акад. А. Н. Теренину и А. А. Красновскому за ценные указания и обсуждение работы.

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

Поступило  
7 I 1953

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. А. Красновский, Усп. биол. хим., 1, 473 (1950). <sup>2</sup> Е. Рабинович, Фотосинтез, М., 1951, стр. 499. <sup>3</sup> R. Livingston, W. Watson, J. McArdle, J. Am. Chem. Soc., 71, 1542 (1949). <sup>4</sup> В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, А. А. Красновский, ДАН, 70, 261 (1950); 64, 1133 (1949). <sup>5</sup> R. Livingston, S. Weil, Nature, 170, 750 (1952). <sup>6</sup> А. Н. Теренин, Фотохимия красителей, 1947, гл. 7. <sup>7</sup> А. А. Красновский, Г. П. Брин, ДАН, 67, 325 (1949). <sup>8</sup> А. А. Красновский, Г. П. Брин, ДАН, 63, 163 (1948); А. А. Красновский, Л. М. Кособудская, ДАН, 85, 177 (1952).