Доклады Академии наук СССР
1955. Том 103, № 1

ФИЗИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

В. Б. ЕВСТИГНЕЕВ и В. А. ГАВРИЛОВА

ОБ ИЗМЕНЕНИИ ЭЛЕКТРОПРОВОДНОСТИ РАСТВОРОВ ХЛОРОФИЛЛА И НЕКОТОРЫХ ДРУГИХ ПИГМЕНТОВ ПРИ ИХ ФОТОВОССТАНОВЛЕНИИ

(Представлено академиком А. Н. Терениным 28 II 1955)

В работах лаборатории фотобиохимии Института биохимии им. А. Н. Баха АН СССР было установлено, что хлорофилл и его аналоги способны обратимо восстанавливаться при освещении их растворов в присутствии ряда восстановителей, в частности аскорбиновой кислоты ([1]). Дальнейшие исследования с применением спектральных и потенциометрических методов в условиях низких температур показали, что реакция фотовосстановления этих пигментов с образованием более или менее устойчивых восстановленных форм проходит по меньшей мере в две стадии ([2]). В результате первичного фотохимического изменения образуется весьма реакционноспособная электродно-активная восстановленная форма пигмента, представляющая собой, повидимому, отрицательно заряженный свободный радикал. Следовало ожидать, что появление в растворе подобного соединения, обладающего зарядом, должно вызвать увеличение электропроводности раствора. В данном сообщении описываются попытки обнаружить фотопроводимость в вышеупомянутых растворах. В литературе имеется очень мало данных по исследованию фотопроводимости растворов красителей и нет никаких сведений относительно поведения хлорофилла и его аналогов ([3]).

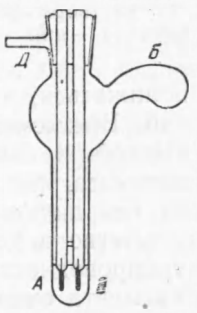


Рис. 1. Вакуумный электродный сосуд

Измерения электропроводности проводились нами в вакуумном сосуде, изображенном на рис. 1. Платиновые электроды *А* размером 5 × 5 мм, неподвижно укрепленные в рамочках из стекла, находились на расстоянии 7 мм друг от друга. Откачка воздуха производилась через трубку *Д*. Боковое ответвление *Б* служило для помещения жидкостей, которые по ходу опыта можно было добавить к раствору, не нарушая вакуума.

В качестве измерительного прибора служил универсальный мост переменного тока с усилителем и индикаторным глазком (лампа 6Е5). Хотя этот прибор и не является прецизионным, но он позволял с достаточной для нас точностью проводить измерения сопротивления в интервале от 0,1 до 10 МΩ. Термостатирование и освещение растворов проводилось на установке, описанной ранее ([2]).

Большинство опытов было проведено с пиридиновыми растворами. В качестве восстановителя использовался преимущественно фенилгидразин, так как аскорбиновая кислота является электролитом и сильно повышает темновую проводимость, снижая этим относительное изменение проводимости при освещении. Как показали предварительные опыты, в случае применения того или другого восстановителя наблюдается только количественная разница.

Измерения электропроводности обычно производились в начале опыта до освещения, через 5 и 15 сек. после освещения и затем через определенные промежутки времени при дальнейшем освещении; то же повторялось при выключении света. Результаты измерений выражались в величинах, обратных значению сопротивлений в омах, отсчитываемых по шкале прибора.

На рис. 2 приведены кривые, показывающие измерения электропроводности при освещении раствора феофитина а (концентрация $5 \cdot 10^{-5}$ мол/л) в присутствии $0{,}5 \cdot 10^{-1}$ мол/л фенилгидразина. Как следует из рисунка, освещение при —40° вызывает резкий подъем электропроводности, продолжающийся при данной интенсивности освещения 15—30 сек. Затем подъем прекращается, и электропроводность остается на достигнутом уровне в течение дальнейшего освещения. При выключении освещения электропроводность медленно и постепенно понижается; при впуске воздуха она быстро достигает исходной величины.

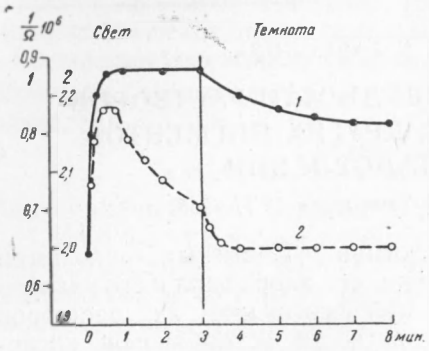


Рис. 2. Изменение электропроводности раствора феофитина а в пиридине: *1* — при —40°; *2* — при + 20°

При комнатной температуре подъем электропроводности продолжается также 15—30 сек., но затем, после небольшой задержки, она начинает быстро понижаться, и через 4—5 мин. освещения мало отличается от исходной. Выключение света быстро приводит ее к тому значению, которое имелось в начале опыта. Контрольные опыты с освещением растворов пигмента, не содержащих восстановителя или содержащих последний, но без пигмента, не показали никаких изменений электропроводности.

Легко видеть, что изменения электропроводности указанных растворов пигмента очень хорошо коррелируют с изменениями потенциала инертного электрода в тех же условиях и также объясняются появлением и исчезновением первичной фотовосстановленной формы пигмента ([26, в, г]). Падение электропроводности при освещении при нормальной температуре объясняется, следовательно, переходом первичной фотовосстановленной формы во вторичную, менее или совсем не ионизированную.

Не менее четкая картина изменения электропроводности получается и при освещении пиридиновых растворов хлорофиллов, содержащих восстановитель.

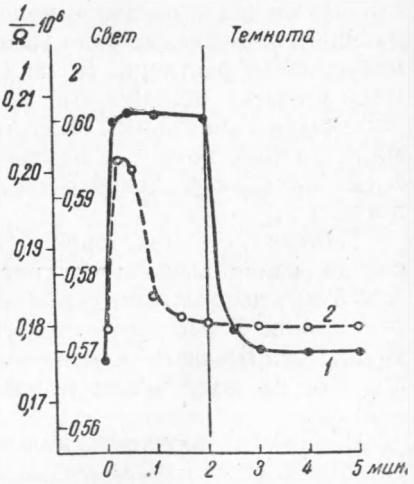


Рис. 3. Изменение электропроводности раствора хлорофилла а + b в пиридине: *1*—при —40°, *2*—при +20

На рис. 3 представлены результаты соответствующих опытов с хлорофиллом а + b (концентрации того же порядка, что и в случае феофитина). При включении освещения электропроводность очень быстро увеличивается и через несколько секунд достигает предельной величины. При дальнейшем освещении при низкой температуре она остается почти на этом уровне, а при комнатной температуре начинает быстро понижаться и через 1—2 мин. снижается почти до исходной величины. При выключении света электропроводность резко падает даже при низкой

температуре. Основное изменение происходит за первые секунды, а через 1 мин. электропроводность возвращается на исходный уровень.

Быстрым падением величины электропроводности при выключении света при низкой температуре хлорофилл отличается от феофитина, в случае которого проводимость при —40° понижается только очень медленно. Этот факт прямым экспериментом полностью подтверждает высказанное нами ранее предположение ([2б–д]), что первичная фотовосстановленная форма феофитина отличается от соответствующей формы хлорофилла большой стойкостью к окислению, вследствие чего обратная реакция для нее идет значительно медленнее и равновесие общей реакции сдвигается в случае феофитина в восстановительную сторону. Опыт с электропроводностью показывает, что обратная реакция электродноактивной ионизированной первичной восстановленной формы хлорофилла проходит в темноте весьма быстро, и объясняет, почему эта форма не накапливается даже при низкой температуре в значительном количестве, что имеет место в случае феофитина. Естественно поэтому, что мы не смогли уловить значительных спектральных изменений при освещении хлорофилла ([2г, д]), подобных тем, которые имеют место в случае феофитина,— изменения спектра, происходящие при освещении, почти целиком исчезают за несколько секунд темноты. Времени, требующегося для вынимания измерительного сосуда из осветительной установки и производства измерения, с избытком достаточно, чтобы эти изменения полностью закончились.

Результаты, полученные с хлорофиллом a + b, полностью подтверждаются в опытах с растворами одинаковой концентрации хлорофиллов a и b по отдельности.

Абсолютные изменения электропроводности при включении света в случае хлорофилла b значительно больше, чем в случае хлорофилла a. Это хорошо согласуется с данными о большей скорости фотовосстановления хлорофилла b по сравнению с хлорофиллом a и с данными о большей способности его к сенсибилизации фотовосстановления красителей (3е). Следует отметить, что изменение электропроводности в случае хлорофилла b при прочих равных условиях в 3,5—4 раза больше, чем в случае хлорофилла a, т. е. приблизительно во столько же раз, во сколько разнится скорость восстановления этих пигментов и их способность к сенсибилизации. Это лишний раз подтверждает роль первичной фотовосстановленной формы хлорофиллов в обоих случаях.

Контрольные опыты с пиридиновыми растворами хлорофиллов, но без восстановителя или с растворами фенилгидразина без пигмента, и при —40° и при комнатной температуре дали отрицательные результаты: никаких изменений проводимости в пределах точности нашего прибора при освещении наблюдать не удавалось. Такие же результаты получились с растворами не способного к фотовосстановлению аналога хлорофилла, в котором магний был заменен на медь.

Таким образом, для хлорофиллов и феофитинов можно считать показанным, что первичная фотовосстановленная форма, кроме электродной активности, обладает также свойствами иона.

Интересные данные, позволившие выяснить вопрос, не поддававшийся окончательному разрешению до применения метода измерения электропроводности, были получены с пиридиновыми растворами фталоцианина магния. Как нами было показано ([2д]), фотовосстановительные и темновые окислительные изменения в случае этого пигмента проходят весьма быстро. Даже при —40, —65° при освещении образуется восстановленная форма пигмента с максимумом поглощения 560 мμ, что вызывало некоторое недоумение, так как поглощение в этой области в случае хлорофиллов и феофитинов показывают вторичные восстановленные формы. В то же время красный восстановленный продукт фталоцианина магния, хотя и похожий по цвету на вторичную восстановлен-

ную форму его аналогов, весьма реакционноспособен, легко реагирует с кислородом при —40°, устойчив только при низкой температуре и переходит при подогревании в исходный пигмент.

По результатам потенциометрических измерений трудно было окончательно решить, является ли этот продукт результатом первичного фотовосстановления или в его образовании участвует и темновая реакция, хотя ряд данных говорит в пользу того, что образующееся красное соединение есть результат вторичных изменений.

На рис. 4 приведены кривые изменения электропроводности пиридинового раствора этого пигмента (10^{-4} — 10^{-5} мол/л) при освещении в присутствии фенилгидразина при —40° и двух интенсивностях освещения. Как следует из рисунка, кривая изменения электропроводности при более сильном освещении резко повышается при включении освещения, но уже через 5 сек. почти также резко идет вниз, показывая, что первичная ионная форма восстановленного пигмента очень быстро превращается в соответствующую неионную форму. При более слабом освещении перелом происходит не так резко. Этот факт прямым экспериментом решает поставленный выше вопрос в пользу того, что образующаяся красная форма пигмента является, несмотря на свою значительную реакционноспособность, все же вторичной восстановленной формой и, следовательно, фотовосстановление всех исследованных пигментов идет по одинаковой схеме.

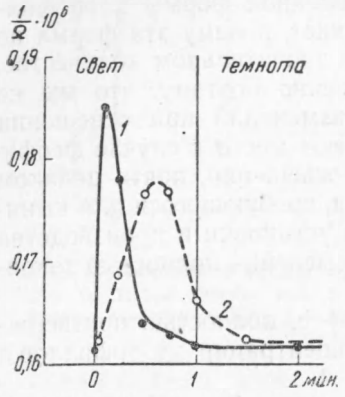


Рис. 4. Изменение электропроводности раствора фталоцианина магния в пиридине. Накал осветительной лампы: *1*—120 в, *2* — 80 в

Полученные данные по измерению электропроводности поддерживают предположение о том, что если первичная фотовосстановленная форма пигмента является ионной формой свободного радикала, то вторичная представляет собой нейтральный продукт, образовавшийся, повидимому, путем темнового переноса протона.

Весьма интересные данные были получены при прямом и сенсибилизированном фотовосстановлении фенилгидразином некоторых красителей, в частности сафранина и нейтрального красного. Измерения показывают, что в этом случае проводимость раствора при освещении не увеличивается, а уменьшается, что объясняется, повидимому, нейтрализацией уже имеющегося в растворе положительно заряженного иона этих красителей, электроном, передающимся при освещении от восстановителя. Восстановленная форма этих красителей, повидимому, в гораздо меньшей степени способна к ионизации, чем исходный краситель.

Следует думать, что применение кондуктометрического метода может дать весьма ценный материал при изучении фотохимических реакций красителей в растворах и что он незаслуженно мало использовался в этом направлении до настоящего времени.

Выражаем благодарность акад. А. Н. Теренину и проф. А. А. Красновскому за постоянное внимание и обсуждение работы.

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

Поступило
12 II 1955

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

[1] А. А. Красновский и др., ДАН, **60**, 421 (1948); **69**, 393 (1949); **73**, 1239 (1950); **81**, 879 (1951); **81**, 1105 (1951); **89**, 527 (1953). [2] В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, а) ДАН, **91**, 899 (1953); б) **92**, 381 (1953); в) **95**, 841 (1954); г) **96**, 1201 (1954); д) **98**, 1017 (1954); е) **100**, 131 (1955). [3] Н. К. Щодро, Изв. Росс. Акад. наук, 6, 727 (1919); Изв. физ. инст., **1**, 57, 132 (1920); J. Chim. Phys., **26**, 59, 117 (1929); H. Soulan, C. R., **172**, 581 (1921).