

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ

НЕКОТОРЫЕ КИНЕТИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕХАНИЗМА ФОТООКИСЛЕНИЯ ХЛОРОФИЛЛОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ВЫСШИХ ЗЕЛЕННЫХ РАСТЕНИЙ, В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

Кликин Евгений Геннадьевич

аспирант 4 курса

Юго-Западный государственный университет

г. Курск

Лавров Роман Владимирович

кандидат технических наук, доцент

Юго-Западный государственный университет

г. Курск

SOME KINETIC FEATURES OF THE MECHANISM PHOTO-OXIDATION OF CHLOROPHYLLES, ISOLATED FROM HIGHER GREEN PLANTS, IN LABORATORY CONDITIONS

Klikin Evgeny Gennadievich

graduate student of 4-year

Southwestern State University,

Kursk

Lavrov Roman Vladimirovich

candidate of technical sciences, associate professor

Southwestern State University,

Kursk

Аннотация

Цель. Целью исследования являлось изучение кинетики процесса фотоокисления хлорофиллов а и b вне живой системы, выделенных в виде водно-спиртового экстракта из растения горца птичьего.

Методы. Применялись методы, основанные на измерении оптической плотности экстракта и визуальном наблюдении за изменением его окраски.

Результаты. Представлены результаты в виде спектра поглощения экстракта и изменения его оптической плотности вследствие фотоокисления, также сделаны фотографии экстракта до и после воздействия излучения.

Выводы. Сделаны выводы по предположительному механизму данных реакций.

Abstract

Aim. The aim of the study was to study the kinetics of the process of photooxidation of chlorophylls a and b outside the living system, isolated in the form of an aqueous-alcoholic extract from the plant highlander avian.

Methods. Methods based on measuring the optical density of the extract and visual observation of its color change were used.

Results. The results are presented in the form of an absorption spectrum of the extract and changes in its optical density due to photooxidation; photographs of the extract were also taken before and after exposure to radiation.

Conclusions. Conclusions made on the hypothetical mechanism of these reactions.

Ключевые слова: триплетное состояние; синглетный кислород; хлорофиллид а; свободные радикалы; правило аддитивности; синглет-синглетные электронные переходы; мультиплетность; in vitro.

Keywords: triplet state; singlet oxygen; chlorophyllide a; free radicals; additivity rule; singlet-singlet electronic transitions; multiplicity; in vitro.

Используемое оборудование, материалы:

Водяная баня ТМ «ULAB» УТ-4312, ступка с пестиком, насос Камовского, импульсная лампа-вспышка Fancier SF-45M 45Дж, спектрофотометр ПЭ-5400В, электронные весы, пробирки, штативы, фильтровальная бумага.

В качестве материалов были использованы измельченные молодые побеги растения горца птичьего, водно-спиртовой 50% раствор этанола, кварцевый песок.

Изучаемые фотохимические процессы, представленные в статье, имеют прямое отношение

к фотосинтезу – процессу, протекающему в живых организмах. Фотосинтез – сложный химический процесс преобразования энергии видимого света в энергию химических связей органических веществ при участии фотосинтетических пигментов. Главная составляющая фотосинтетической системы растений это хлорофиллы – зеленые магний порфириновые пигменты [5,с.60].

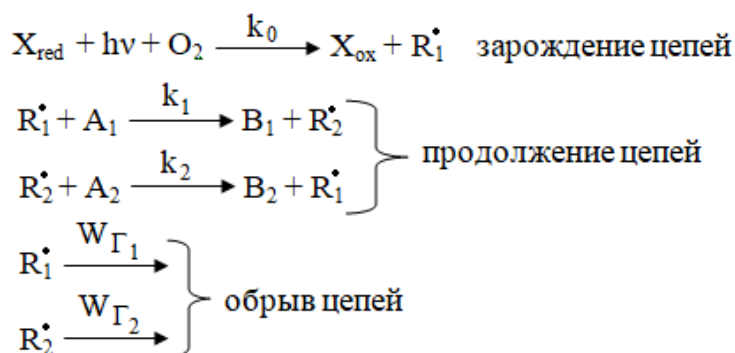
Процессы фотоокисления хлорофиллов в живых системах достаточно хорошо изучены. Поэтому представлял научный интерес изучить особенность данных процессов in vitro с

использованием водно-спиртовых экстрактов зеленых растений, содержащих хлорофиллы а и в.

Экспериментальная часть

Процесс извлечения хлорофиллов из измельченных побегов растения горца птичьего проводился путем перетиравания данных побегов в количестве 5,0 гр. в ступке с 0,5 гр. кварцевого песка и 80 мл. 50%-го водного раствора этанола. Процесс экстракции проводился на водяной бане при постоянном подогреве до 500С. Полученная вытяжка была отфильтрована на насосе Камовского. В связи со способностью хлорофиллов легко окисляться на свету, работа выполнялась в максимально затемненных условиях. Для изучения кинетики фотоокисления выделенных хлорофиллов был задействован спектрофотометр, импульсная лампа-вспышка. Кроме того, также использовались электронные весы, пробирки, штативы.

Следует отметить, как показал эксперимент, молекулы хлорофилла *in vitro* способны легко окисляться на свету (уже через 20 мин наблюдался переход окраски из ярко-зеленой в желтовато-зеленую с последующим полным исчезновением зеленого оттенка). Результаты эксперимента представлены на рис. 1.

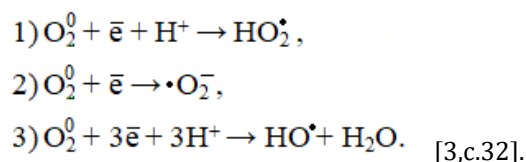


Где: $X_{\text{ред}}$ и $X_{\text{ок}}$ – исходная и окисленная форма хлорофилла, A_1 и A_2 – молекулы каротиноидов, хлорофиллидов, возможные белковые комплексы,

R_1^{\bullet} и R_2^{\bullet} - свободные радикалы [4,с.104].

Следует отметить, что в реакции зарождения цепей может участвовать не только кислород, но и хлорофиллид а, совместно присутствующий с хлорофиллом и являющийся его предшественником. Образующиеся свободные радикалы также могут атаковать и неокисленные молекулы хлорофиллов.

Известно, что под действием избыточной энергии фотонов хлорофилл способен переходит в триплетное возбужденное состояние и таким путем способен сенсibilизировать образование синглетного кислорода $O_2(a^1\Delta_g)$ (более химически активной и короткоживущей возбужденной формы кислорода с суммарным электронным спином равным 0, по сравнению с кислородом в обычном триплетном состоянии $O_2(X^3\Sigma_g^-)$)[1,с.157]. Данный кислород способен легко генерировать свободные радикалы:



Таким образом, возможно предположить, что данный процесс фотоокисления может протекать по механизму цепных реакций (неразветвленных и разветвленных). Предположительную схему неразветвленной цепной реакции можно записать как:

Главной особенностью цепных реакций является то, что они могут протекать без постоянной подпитки энергией извне. Для их запуска требуется только начальное внешнее кратковременное энергетическое воздействие (в нашем случае порция фотонов от мощного источника). Данные реакции могут протекать длительное время еще при одном условии – при сохранении образующимися радикалами свободной валентности [4,с.96].

Результаты данного эксперимента представлены на рис. 1.

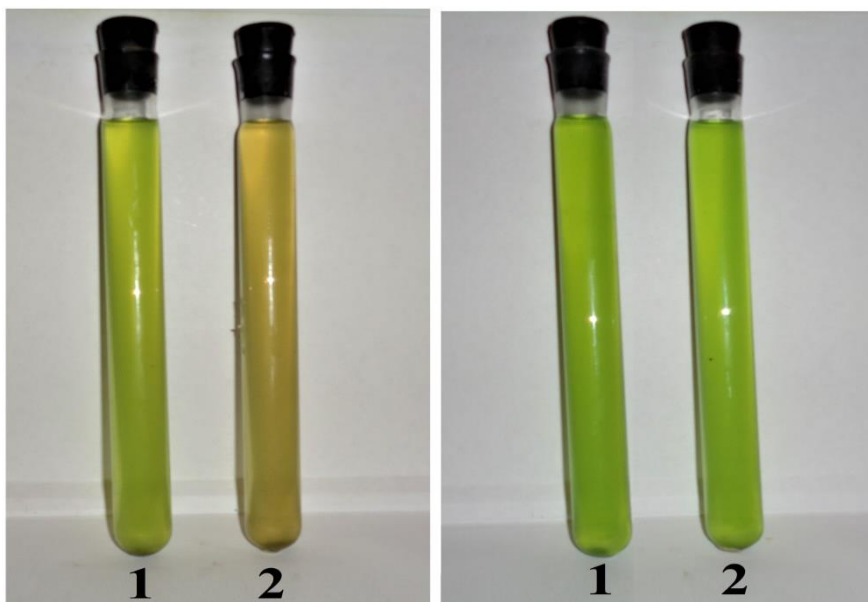


Рис. 1 – Фотографии полученных водно-спиртовых вытяжек из молодых побегов растения горца птичьего.

Рис. слева - после воздействия солнечного света, где 1- образец, выдержанный в темноте 5 часов. 2- образец, подвергнутый солнечному облучению (время экспозиции 5 часов).

Рис. справа – после кратковременного воздействия мощной световой вспышкой, где 1 – образец не подвергавшийся облучению и выдержанный в темноте 5 часов. 2- образец подвергнутый облучению мощной световой вспышкой с последующей 5-ти часовой выдержкой в темноте.

Фото слева доказывает способность хлорофиллов легко окисляться на свету. На фото справа два образца имеют одинаковую зеленую окраску, что не доказывает, что процессы фотоокисления хлорофиллов *in vitro* протекают по цепному механизму.

Возможно, происходит генерация свободных радикалов после мощного светового импульса и цепные реакции имеют место в данных условиях, но они очень скоро затухают вследствие быстрого уничтожения свободной валентности активных радикалов по причине взаимодействия свободных

радикалов со стенками сосуда, или вследствие столкновения с другими радикалами. Влияние второго фактора можно свести к минимуму при изучении процессов фотоокисления в значительно разбавленных растворах, но в этом случае сложнее будет уловить изменение окраски среды [4,с.94].

На рис.2 приведены спектры поглощения отдельных соединений из литературных источников и полученный спектр поглощения изучаемой водно-спиртовой вытяжки с использованием спектрофотометра.

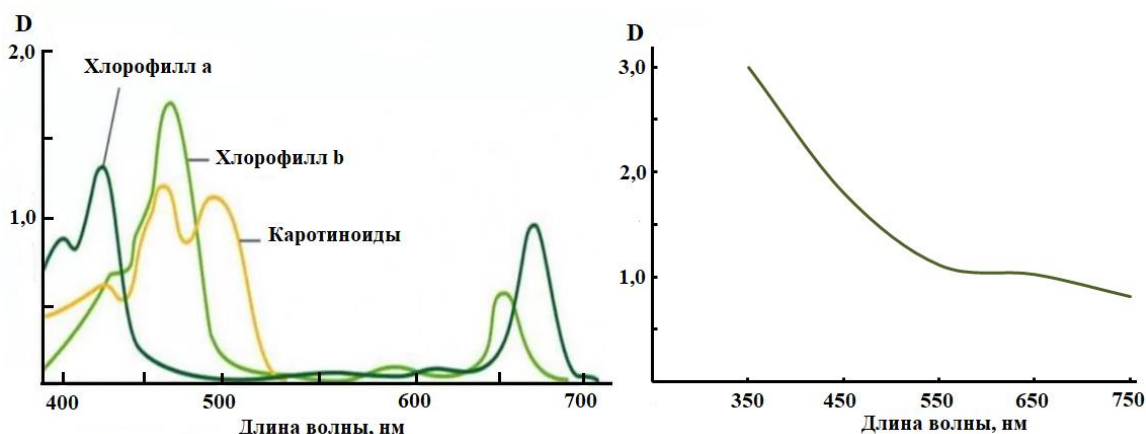


Рис.2 – Спектры поглощения.

Рис. слева – индивидуальных веществ.

Рис. справа – полученной водно-спиртовой вытяжки из побегов растения горца птичьего.

Полученный спектр не соответствует спектрам чистых компонентов. Причина данного явления неясна. Возможно из-за высоких концентраций компонентов данный спектр формируется по

правилу аддитивности путем наложения спектров индивидуальных соединений (вследствие возможных перекрестных электронных переходов между атомными группировками различных

веществ). Наблюдается максимальное значение энергии электронных переходов ΔE при $\lambda = 350$ нм. Так как растворы хлорофиллов способны флуоресцировать, но не способны к фосфоресценции, следовательно, энергия фотонов расходуется на синглет-синглетные электронные переходы с сохранением мультиплетности

$$\Delta E = S1 - S0 [2,с.30-32].$$

Процессы поглощения света, люминесценции и безизлучательные переходы можно представить в виде кинетических уравнений:

1. Поглощение кванта
 $S0 + h\nu \rightarrow S1 \quad w0 = k0I0[S0]$
2. Люминесценция $S1 \rightarrow S0 + h\nu \quad w1 = k1[S1]$
3. Внутримолекулярное тушение
 $S1 \rightarrow S0 \quad w2 = k2[S1]$
4. Тушение молекулой тушителя
 $S1 + Q \rightarrow S0 + Q \quad w3 = k3[S1]$

Следует отметить, что по данным снятого спектра поглощения возможно рассчитать время жизни молекул τ_0 в возбужденном состоянии (в

частности молекул хлорофиллов) по следующей формуле:

$$k_1 = \frac{1}{\tau_0} = \frac{\bar{\nu}_m^2}{3,5 \cdot 10^8} \int_{\bar{\nu}=0}^{\infty} \epsilon d\bar{\nu}$$

Где ν – волновое число, обратное длине волны поглощаемого излучения, ν_m – в максимуме поглощения, ϵ – коэффициент поглощения [1,с.62].

Из данной формулы следует, что чем интенсивнее полоса поглощения вещества, тем меньше время жизни молекул в возбужденном состоянии. Согласно полученному спектру поглощения водно-спиртового экстракта наименьшее время жизни возбужденных молекул хлорофилла имеет место при облучении экстракта световым излучением с длиной волны 350 нм.

Была изучена кинетика фотоокисления хлорофиллов путем измерения оптических плотностей при разных длинах волн в течении определенного промежутка времени. Результаты представлены на рис.3.

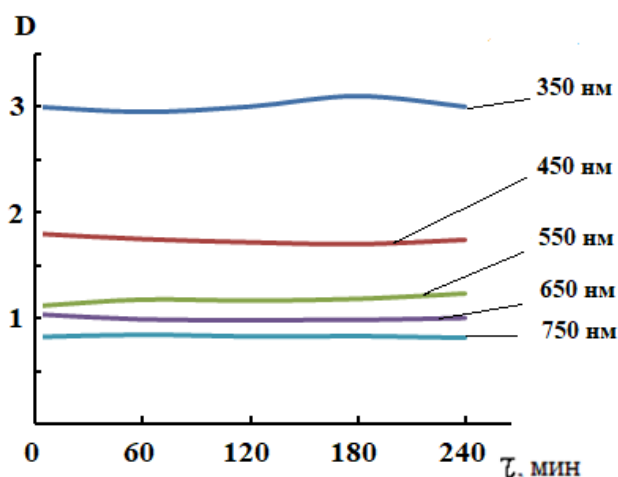


Рис.3 - Результаты измерений оптической плотности водно-спиртового экстракта, полученного из растения горца птичьего, в процессе фотоокисления в течении 240 мин при $\lambda = 350, 450, 550, 650, 750$ нм.

Не наблюдалось явных изменений оптической плотности во времени ведения процесса, несмотря на характерное изменение окраски водно-спиртовой вытяжки (цвет из желто-зеленого переходил в светло-коричневый).

Выводы. Было предположено, что процесс фотоокисления хлорофиллов *in vitro* протекает по механизму цепных реакций, однако данное предположение не было доказано, но также не было и опровергнуто.

Только при визуальном наблюдении удалось зафиксировать процесс окисления хлорофиллов на свету по постепенному изменению окраски экстракта.

Список литературы

1. Владимиров Ю.А. Физико-химические основы фотобиологических процессов: учебник для вузов / Ю.А. Владимиров, А.Я. Потапенко. – 2-

- изд., перераб. и доп. – М.: Дрофа, 2006. – 285 с.
2. Гиллет Д. Фотофизика и фотохимия полимеров. Введение в изучение фотопроцессов в макромолекулах: Пер. с англ. – М.: Мир, 1988. – 435 с.
3. Егоров А.С., Иванченко Н.М., Шацкая К.П. Химия внутри нас: Введение в бионеорганическую и биоорганическую химию. – Ростов н/Д: Феникс, 2004. – 192 с.
4. Иванов А.М., Пожидаева С.Д. Введение в кинетику сложных химических реакций: Учебное пособие /Курск. гос. техн. ун-т. Курск, 2002. – 222 с.
5. Карасев, В.Н. Физиология растений: экспериментальные исследования / В.Н. Карасев, М.А. Карасева. – Йошкар-Ола : Поволжский государственный технологический университет, 2018. – 312 с.