

Э. Е. ГУТМАН, И. А. МЯСНИКОВ

**ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛУПРОВОДНИКОВОГО МЕТОДА ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ  
ГАЗООБМЕНА КИСЛОРОДА В ЗЕЛЕНОМ ЛИСТЕ  
В АНАЭРОБНЫХ УСЛОВИЯХ**

(Представлено академиком А. Л. Курсановым 21 VI 1971)

Метод полупроводниковых зондов (<sup>1</sup>) разработан и применяется для изучения гетерогенных каталитических процессов на различных поверхностях (полупроводники, металлы, диэлектрики).

Роль полупроводникового датчика — непрерывная регистрация активных частиц (атомов, радикалов, ионов, активных молекул) и определение их концентрации в реакционном объеме. Физико-химическая основа действия такого детектора — сильное влияние хемосорбции активных частиц (и среди них — молекулярного кислорода) на проводимость тонких поликристаллических полупроводниковых пленок окисного типа (ZnO, TiO<sub>2</sub>, CdO). Заметим, что детектор индифферентен к наличию углекислоты и паров воды в газовой фазе.

Известным ограничением метода является необходимость герметизации системы в отношении кислорода атмосферы. Появление кислорода в пространстве, окружающем полупроводниковую пленку, даже в небольшом количестве (10<sup>-6</sup>—10<sup>-1</sup> об. %) заметно влияет на ее электропроводность.

Цель данной работы — применить полупроводниковый метод для изучения газообмена кислорода в зеленом листе в анаэробных условиях. Такое исследование представляет интерес в связи с изучением механизма фотосинтеза и, в первую очередь, вопросов, связанных с влиянием низких концентраций атмосферного кислорода на активность фотосинтетического выделения кислорода (<sup>2</sup>), выяснения роли фотодыхания (<sup>3</sup>), механизма переноса электрона в фотосинтезе (<sup>4</sup>).

В работе (<sup>5</sup>) сообщается об использовании ионной проводимости окиси циркония при высоких температурах для измерения выделения фотосинтетического кислорода листьями высших растений при низких концентрациях кислорода в газовой фазе (0,1%). Отмечается высокая чувствительность (10<sup>-5</sup>% O<sub>2</sub>), стабильность, достаточно быстрый ответ. Детектор неприменим для изучения газообмена кислорода при наличии следов восстановительных газов в потоке азота. Не сообщается о возможности работы детектора в анаэробных условиях. Детектор не может быть расположен достаточно близко к листовой камере, что существенно увеличивает время ответа и затрудняет некоторые кинетические измерения.

В основу разработанной методики положен предложенный ранее (<sup>6</sup>) полупроводниковый способ непрерывного определения микроконцентраций кислорода (10<sup>-1</sup>—10<sup>-6</sup> об. %) в различных газах (азот, водород, углекислота, инертные газы, углеводороды).

Установленные зависимости (<sup>7</sup>)

$$a \sim [O_2] \text{ и } \left( \frac{d\sigma}{dt} \right)_{t \rightarrow 0} \sim a,$$

где  $a = \frac{\Delta\sigma \cdot \sigma_0}{\sigma^2}$ ,  $\Delta\sigma$  — равновесное изменение проводимости детектора при адсорбции кислорода;  $\sigma_0$  — проводимость до адсорбции;  $\sigma$  — проводимость

мость в равновесных условиях;  $\left(\frac{d\sigma}{dt}\right)_{t \rightarrow 0}$  — начальная скорость изменения проводимости, позволили определять количество выделившегося кислорода либо кинетическим методом, т. е. с помощью измерения величин  $v = \left(\frac{d\sigma}{dt}\right)_{t \rightarrow 0}$ , либо методом, связанным с измерением равновесной величины проводимости. Каждый из них, имея свои преимущества и недостатки, может применяться в зависимости от поставленной задачи.

Кинетический метод, требующий для проведения одного измерения времени от нескольких секунд до нескольких минут, применяется при изучении быстротекущих процессов, например выделения кислорода при освещении листа лампой-вспышкой или обычными источниками света в течение 1—40 сек. Если время между измерениями составляет несколько минут, то детектор потоком азота успевает полностью «очиститься» от хемосорбированного кислорода, проводимость возвращается к исходному значению. Можно проводить и 5—7 измерений подряд (без «очистки»), при этом результаты практически не искажаются из-за достаточно большой емкости детектора в отношении хемосорбции кислорода. В подобных опытах температура детектора поддерживалась 350—400°.

Метод, связанный с измерением равновесных величин проводимости, применяется, когда нужно количественно наблюдать в течение длительного времени за выделением кислорода. В условиях наших опытов время установления равновесной проводимости составляло 30—40 мин. (при  $10^{-1} \div 10^{-6}$  об. %  $O_2$  в азоте и температуре детектора 350—400°). Повышение температуры до 550—600° снижает эту величину до 10—15 мин., но сопровождается некоторой потерей чувствительности детектора.

Отметим основные достоинства полупроводникового метода при его использовании в биологических системах. 1) Простота изготовления и применения детектора. Полупроводниковый датчик может быть изготовлен из окиси цинка или окиси титана в виде маленького пятнышка поликристаллической пленки диаметром 1—2 мм, соединяющей на тонком кварцевом стеклышке две платиновых или золотых полоски — электрода. Такое устройство можно сделать подвижным, поднося его к различным участкам поверхности листа, зондируя последний в отношении распределения активных к действию света центров. 2) Высокая чувствительность ( $10^{-6}$ — $10^{-1}$  об. %  $O_2$ ), воспроизводимость 5—10%, полная обратимость проводимости детектора, малая инерционность (5—10 сек), 3) Строгая пропорциональность между концентрацией кислорода и начальной скоростью изменения проводимости детектора  $v$  (сек<sup>-1</sup>) позволяет изучать тонкие механизмы явлений, связанных с выделением кислорода, например при импульсном (1—3 сек.) освещении зеленого листа.

Полупроводниковый метод, по-видимому, может оказаться полезным для изучения ряда сложных процессов, возникающих при действии света на живой зеленый лист, особенно, если изучение этих процессов возможно в анаэробных условиях (запасание и передача световой энергии возбуждения<sup>(8)</sup>, «память» листа<sup>(9)</sup>, механизм выделения кислорода<sup>(10)</sup> и др.).

Применимость полупроводниковой методики для исследования газообмена кислорода в зеленом листе была проверена на установке (рис. 1). Установка проточного типа состоит из системы очистки азота (1), листовой камеры (2), источника света 30 вт лампы (3), полупроводникового детектора с нагревателем (4), мостовой схемы для измерения электропро-

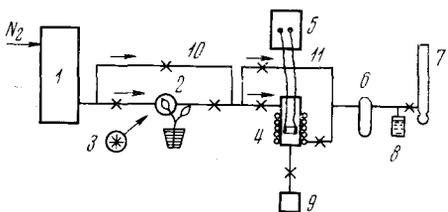


Рис. 1. Схема установки для исследования газообмена кислорода в зеленом листе

водности (мост ППТВ-1 и зеркальный гальванометр с чувствительностью по току  $10^{-9}$  а на 1 мм шкалы); ртутного реометра (6), пенного расходомера (7), стаканчика с водой (8), вакуумного поста (для формирования детектора и обнаружения возможных течей) (9), обводных линий (10, 11) вакуумных кранов (X).

Объектом исследования служили листья тополя спрени яблони (летом), бобов и традесканции (зимой). Последние выращивали под люминесцентными лампами. Опыты проводились с отдельными и неотделенными листьями. В первом случае черешок листа, помещенного в камеру, опускали в стаканчик с водой. Место выхода черешка листа из камеры уплотняли вакуумным пластилином (во избежание попадания кислорода из атмосферы в камеру с листом). Опыт проводился следующим образом. Камеру с листом продували чистым азотом до тех пор, пока детектор не показывал отсутствие кислорода в потоке азота. Продолжительность продувания 45—60 мин. Затем, не прекращая продувания, лист освещали 30 вт лампой и наблюдали сильный сигнал изменения проводимости детектора. Сигнал вызван выделением кислорода из листа при освещении\* (рис. 2).

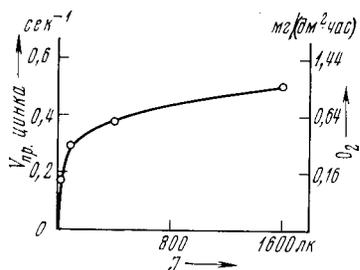


Рис. 2. Зависимость скорости выделения кислорода от освещенности листа традесканции лампой 30 вт. Левая ордината — начальная скорость изменения электропроводности пленки окиси цинка ( $v_{пр}$ )

При недостатке воды происходило увядание листа — снижение, а затем необратимое исчезновение сигнала. Предварительное кипячение или замораживание листа ( $-80^{\circ}$ ) в течение всего 1 мин. приводило к полному прекращению выделения кислорода при последующем продувании листа азотом и освещении. Таким образом, наблюдаемое нами выделение кислорода при освещении зеленого листа в потоке азота, по-видимому, присуще лишь живому листу и является результатом его жизнедеятельности. Выделение кислорода при освещении связано с реакциями в самом листе, а не с диффузией кислорода по ножке листа с последующим его выделением при освещении. В этих опытах черешок отделенного листа, помещенного в листовую камеру, погружался в колбочку с водой, кислород из которой выдувался потоком чистого азота. Величина сигнала при освещении листа от этой операции не менялась.

С помощью полупроводникового метода мы наблюдали такие эффекты, как сезонное старение листьев, выделение кислорода при освещении оборотной стороны листа (сигнал в 2—3 раза слабее) и отдельных частей его поверхности (зондирование листа тонким лучом в отношении распределения активных к действию света центров). В дальнейшем установили, что освещение листа даже рассеянным комнатным светом в течение 1—2 мин. приводит к появлению заметного эффекта изменения проводимости детектора.

Добавление углекислоты в азот (0,3—3 об.%) в темноте не приводило к изменению сигнала при освещении листа. Выделение кислорода при периодическом освещении листа лампой 30 вт продолжалось в течение суток, пока лист оставался живым. При этом мы не наблюдали заметного угнетения выделения кислорода после двух-трех часов непрерывного освещения листа с последующим 30-минутным темновым «отдыхом». Интенсивность процесса,  $0,2-1$  мг  $O_2$ /дм²·час, зависела от продолжительности анаэробноза

\* Ловушка с активированной медью, поставленная между листовой камерой и детектором при  $T_{лов} = 300^{\circ}$ , резко снижала сигнал изменения проводимости при освещении листа (поглощение кислорода нагретой медью). При  $T_{лов} = 23^{\circ}$  мы не наблюдали изменения сигнала.

и интенсивности освещения. Длительный анаэробиз (сутки) и слабый свет (рис. 2) снижали величину сигнала. На рис. 2 представлена световая кривая выделения кислорода листьями традесканции. Насыщение наступает при низкой освещенности листа (1500 лк), что для традесканции — теплолюбивого растения, — вероятно, соответствует световому насыщению фотосинтеза. Таким образом, мы измеряли, по-видимому, фотосинтетический газообмен кислорода. На это указывает и спектральная зависимость процесса (рис. 3) <sup>(11)</sup>.

В то же время остается не ясным, почему добавление углекислоты в листовую камеру не увеличивает интенсивность этого процесса. Можно предполагать, что в условиях длительного анаэробиза в темноте в клетке накапливаются значительные количества углекислоты, которые были достаточны для фотосинтеза в анаэробных условиях и которые сами ингибируют фотосинтез. Возможно и другое явление — разобщение процессов выделения кислорода и ассимиляции углекислоты. Оба высказанных предположения требуют дальнейших исследований.

В заключение авторы приносят глубокую благодарность Н. П. Воскресенской за интерес к работе и ценные замечания.

Физико-химический  
институт им. Л. Я. Карпова  
Москва

Поступило  
21 VI 1971

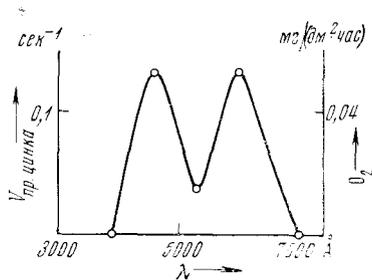


Рис. 3. Зависимость скорости выделения кислорода листом традесканции от спектрального состава света

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> И. А. Мясников, *Электронные явления в адсорбции и катализе на полупроводниках*, М., 1969. <sup>2</sup> Н. М. Назаров, В. М. Кутюрин, *Физиол. растений*, 16, 414 (1969). <sup>3</sup> W. A. Jackson, R. J. Volk, *Ann. Rev. of Plant Physiol.*, 21, 385 (1970). <sup>4</sup> G. M. Cheniae, *Ann. Rev. of Plant Physiol.*, 21, 467 (1970). <sup>5</sup> O. Björkman, E. Gauthl, *Photosynthetica*, 4, 123 (1970). <sup>6</sup> И. А. Мясников. Докторская диссертация Физ.-хим. инст. им. Л. Я. Карпова, 1966. <sup>7</sup> И. А. Мясников. *ЖФХ*, 31, 1721 (1957). <sup>8</sup> H. Fröhlich, *Nature*, 219, 743 (1968). <sup>9</sup> А. Д. Семенов, *ДАН*, 183, 476 (1968). <sup>10</sup> А. Леопольд, *Рост и развитие растений*, М., 1968. <sup>11</sup> Н. П. Воскресенская. *Фотосинтез и спектральный состав света*, М., 1965.