

А. Г. ВОЛКОВ, Б. Т. ЛОЖКИН, Л. И. БОГУСЛАВСКИЙ

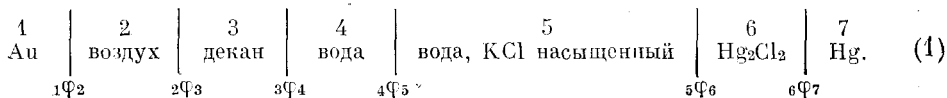
**ПЕРЕНОС ПРОТОНОВ И ЭЛЕКТРОНОВ ЧЕРЕЗ БИСЛОЙНЫЕ  
МЕМБРАНЫ И ГРАНИЦУ РАЗДЕЛА ФАЗ ДЕКАН/ВОДА  
В ПРИСУТСТВИИ ХЛОРОФИЛЛА**

(Представлено академиком А. Н. Фрумкинм 18 XI 1974)

Участие хлорофилла в окислительно-восстановительных реакциях было предметом многочисленных исследований (<sup>1-3</sup>). В работе (<sup>3</sup>) было показано, что протекание окислительно-восстановительных реакций на бислойных липидных мембранах (б.л.м.), содержащих хлорофилл, приводит к генерации трансмембранного потенциала. Объяснение механизма возникновения трансмембранного потенциала основано на весьма существенном допущении об инжекции зарядов из водного раствора электролита в б.л.м. при протекании окислительно-восстановительной реакции на межфазной границе между мембраной и водным раствором. С целью подтверждения этого предположения была исследована система декан/вода, содержащая хлорофилл, адсорбированный на границе раздела, и окислительно-восстановительные системы в обеих фазах. Полученные результаты сопоставлены с данными, найденными при исследовании трансмембранных потенциалов на б.л.м., содержащих хлорофилл, в присутствии НАД-Н и кислорода или феррицианида в качестве окислителя в водном растворе.

Мембраны формировались из растворов лецитина с холестеринном (в отношении 4:3) в декане с добавкой хлорофилла. Хлорофиллы a+b выделялись из крапивы и очищались на колонке из сахарозы (<sup>4</sup>). Соотношение липид — хлорофилл составляло 10. В качестве фона использовался раствор  $10^{-3}$  M KCl. Экспериментальная установка описана в работе (<sup>5</sup>) и позволяла измерять токи и потенциалы на высокоомных объектах. Растекание мембраны контролировалось измерением низкочастотного импеданса (<sup>5</sup>).

Исследуемая система декан/вода была включена в цепь следующим образом:



Вольта-потенциал измерялся в цепи (1) методом вибрирующего конденсатора (<sup>6</sup>).

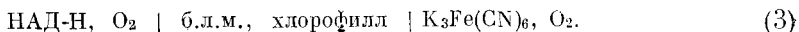
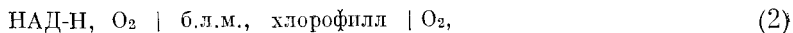
В ячейке находились две несмешивающиеся жидкости: декан и вода, содержащие хлорофилл, адсорбированный на межфазной границе, НАД-Н в воде и нафтохинон в декане. Наблюдаемые изменения вольта-потенциала в цепи (1) могут быть отнесены к изменению на интересующей нас границе раздела декан/вода, если предположить, что скачки  $1\Phi_2$ ,  $2\Phi_3$ ,  $4\Phi_5$ ,  $5\Phi_6$ ,  $6\Phi_7$  остаются неизменными (<sup>6</sup>).

Все растворы готовились на дважды перегнанной воде. Равновесные системы приготавливались в отдельной посуде, где водные растворы в течение 24 час. уравнивались с деканом.

Все приведенные на рис. 2—4 данные представляют собой изменение вольта-потенциала в цепи (1), измеренное методом вибрирующего конденсатора и отложенное относительно фона. Фоном считался раствор такого

состава, который не содержал одного из компонентов, необходимых для протекания окислительно-восстановительной реакции.

На бислойных липидных мембранах были исследованы системы:



Зависимости трансмембранного потенциала от концентрации НАД-Н представлены на рис. 1 (кривые 1, 2) для цепей (2) и (3).

Потенциал части цепи, содержащий НАД-Н, был положительным по отношению к другой части, что соответствовало переносу отрицательно заряженной частицы на противоположную сторону мембраны. Как следует из рис. 1, электродвижущая сила (э.д.с.) в системах (2) и (3) зависит от концентрации восстановителя, причем в присутствии окислителя  $\text{K}_3\text{Fe(CN)}_6$  достигаются более высокие потенциалы при одном и том же содержании НАД-Н.

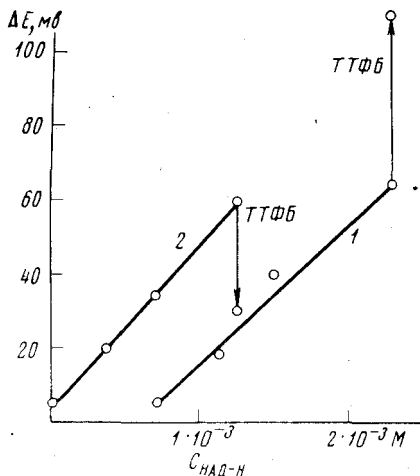


Рис. 1. Зависимость трансмембранного потенциала от концентрации НАД-Н в системах:  $\text{O}_2$ , НАД-Н/б.л.м. хлорофилл/  $\text{O}_2$  (1);  $\text{O}_2$ , НАД-Н/б.л.м., хлорофилл/  $\text{K}_3\text{Fe(CN)}_6$  (2). Фон  $10^{-3}$  M KCl, концентрация ТТФБ  $2 \cdot 10^{-6}$  M

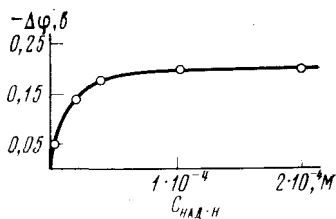


Рис. 2. Зависимость изменения вольта-потенциала, измеренного в цепи (1), от концентрации НАД-Н. Состав реакционной смеси:  $10^{-5}$  M 2-N-метиллапто-1,4-нафтохинон +  $10^{-2}$  M трис-НСI + 5 мкг/мл хлорофилла

Поскольку окислительно-восстановительная реакция на б.л.м., как было установлено в других случаях, может протекать с участием протонов (<sup>7, 8</sup>), нами был использован тест, позволяющий обнаружить существование примембранного слоя (<sup>7</sup>). Опыт состоит в том, что в б.л.м. добавляется слабая кислота, например тетрахлортрифторбензимидазол (ТТФБ), которая делает мембрану протонселективной. Если в ходе реакции у границы раздела фаз возникает примембранный слой с концентрацией протонов, отличной от объемной, то на б.л.м. возникает потенциал, который определяется градиентом концентрации протонов по обе стороны мембраны. Если градиента концентрации протонов не существует, то протонный канал просто шунтирует существовавший до этого потенциал. Рассматривая данные, приведенные на рис. 1 (кривая 1), можно прийти к выводу, что в системе (2) градиент протонов и перенос отрицательных зарядов от НАД-Н вследствие окислительно-восстановительной реакции направлены в противоположные стороны. Поскольку эффект от добавления ТТФБ исчезает только в присутствии буфера в концентрации  $10^{-2}$  M со стороны окислителя, то это указывает на подкисление примембранного слоя со стороны окислителя, которым является в данном случае кислород. В присутствии феррицианида калия в качестве окислителя (кривая 2 рис. 1, система (3)) добавление ТТФБ действует как протонный шунт, снимая потенциал, возникающий за счет трансмембранного переноса электронов.

Для того чтобы выяснить, действительно ли происходит инжекция зарядов из водного раствора в фазу мембраны, была использована модель б.л.м. в виде границы раздела декан/вода, содержащая адсорбированный хлорофилл на границе раздела фаз и окислительно-восстановительные системы в обеих фазах. В качестве восстановителя в водную фазу вводился НАД-Н, а в качестве окислителя вводился в декан 2-N-метиламино-1,4-нафтохинон.

На рис. 2 представлена зависимость вольта-потенциала, измеренного в цепи (1), от концентрации НАД-Н. Отрицательное значение вольта-потенциала указывает на перенос отрицательных зарядов из воды в декан. Для подобного заряжения декана необходимо наличие в нем акцептора

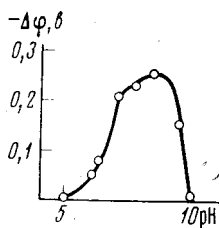


Рис. 3

Рис. 3. Зависимость вольта-потенциала от pH водного раствора. Состав реакционной смеси: 20 мМ трис-HCl+1 мМ НАД-Н+10 мкМ 2-N-метиламино-1,4-нафтохинон+5 мкг/мл хлорофилла

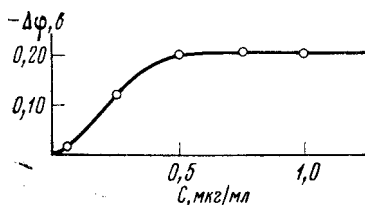


Рис. 4

Рис. 4. Зависимость изменения вольта-потенциала от концентрации хлорофилла. Состав реакционной смеси:  $10^{-5}$  М 2-N-метиламино-1,4-нафтохинон+ $2 \cdot 10^{-4}$  М НАД-Н+ $10^{-2}$  М трис-HCl, pH 7,4

электронов, например, 2-N-метиламино-1,4-нафтохинона (рис. 2), который может обменивать как электроны, так и  $\text{H}^-$  ( $\text{H}^+ + 2e^-$ ). Из рис. 2 можно сделать вывод, что поскольку через границу раздела фаз переносятся отрицательные заряды, то они могут быть либо электронами, либо гидрид-ионами.

Интересно отметить влияние такого физико-химического параметра, как pH водного раствора, на величину вольта-потенциала в цепи (1).

На рис. 3 представлена зависимость вольта-потенциала от pH водного раствора. На рис. 3 видно, что инжекция отрицательных зарядов из воды в масло имеет оптимум при pH, равном 7—9, и ингибируется в кислой и сильно щелочной области. Ингибирование реакции переноса зарядов в кислой области может быть связано, например, с тем, что в кислой среде хлорофилл теряет магний, давая феофитины<sup>(9)</sup>. Процесс ингибирования в щелочной области может быть связан с тем, что при  $\text{pH} > 10$  происходит разрыв карбоциклического кольца и получают соли трехосновных кислот хлорофиллинов, так как одновременно гидролизуются сложноэфирные связи<sup>(9)</sup>.

На рис. 4 можно видеть изменение вольта-потенциала в цепи (1) от концентрации хлорофилла. Вольта-потенциал достигает насыщения при концентрации хлорофилла менее  $10^{-6}$  М. Вольта-потенциал не меняется при увеличении буферной емкости раствора от 5 до 100 мМ трис-HCl. Этот результат свидетельствует о том, что изменение скачка потенциала на границе раздела фаз декан/вода не связано с изменением pH в приграничном слое.

Величина исследуемого вольта-потенциала не зависит от того, каким образом включается окислительно-восстановительная реакция — субстратом НАД-Н в водной фазе, хлорофиллом на межфазной границе или акцептором электронов в фазе декана. Изменения вольта-потенциала не наблюдаются при исключении одного из компонентов исследуемой реакции.

Исходя из данных, полученных при исследовании переноса зарядов через бислойные липидные мембраны и границу раздела декан/вода, можно утверждать, что хлорофилл, адсорбированный на границе раздела фаз, является необходимым ингредиентом для протекания окислительно-восстановительных реакций между веществами, находящимися в различных фазах, что сопровождается инжекцией отрицательных зарядов в диэлектрическую мембрану. Поскольку бислойная липидная мембрана отличается от границы раздела фаз декан/вода, содержащей хлорофилл, лишь одним компонентом — липидом, то можно полагать, что возникновение при участии липидов, как это и предполагалось в работе (7).

Авторы признательны академику А. Н. Фрумкину за критические замечания.

Институт электрохимии  
Академии наук СССР  
Москва

Поступило  
18 XI 1974

#### ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> А. А. Красновский, В сб.: Биохимия и биофизика фотосинтеза, «Наука», 1965.  
<sup>2</sup> В. Б. Евстигнеев, В сб.: Биохимия и биофизика фотосинтеза, «Наука», 1965. <sup>3</sup> H. Ti  
Tien, V. Kai Hwa Chen, Progr. Surf. and Membr. Sci., v. 8, 119 (1974). <sup>4</sup> Пигменты  
пластид зеленых растений и методика их исследований, «Наука», 1964. <sup>5</sup> А. В. Ле-  
бедев, Л. И. Богуславский, Биофизика, т. 16, 221 (1971). <sup>6</sup> А. Н. Фрумкин, М. И. Гу-  
гешавили, Л. И. Богуславский, ДАН, т. 198, 1452 (1971). <sup>7</sup> А. Д. Исмаилов, Л. И.  
Богуславский и др., ДАН, т. 210, 709 (1973). <sup>8</sup> А. Д. Исмаилов, Л. И. Богуславский,  
Л. С. Ягужинский, ДАН, т. 216, 674 (1974). <sup>9</sup> К. Д. Неницеску, Органическая химия,  
т. 2, ИЛ, 1963.