

Б. А. КИСЕЛЕВ, Ю. Н. КОЗЛОВ, В. Б. ЕВСТИГНЕЕВ

# ОБ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПОТЕНЦИАЛАХ ВОЗБУЖДЕННОГО СОСТОЯНИЯ ХЛОРОФИЛЛА

(Представлено академиком А. И. Опариным 24 VII 1975)

Одной из важных проблем фотохимии является количественная оценка реакционной способности пигментов в возбужденном состоянии. Фотохимические реакции часто являются окислительно-восстановительными и возможность их протекания определяется редокс-потенциалами компонентов реакции. Невозбужденные пигменты характеризуются двумя значениями темновых редокс-потенциалов, количественно показывающих их способность восстанавливаться,  $E_0 \text{ п/п}^-$ , и окисляться,  $E_0 \text{ п/п}^+$ . При возбуждении способность молекул как к отдаче, так и к восприятию электрона существенно возрастает. С количественной точки зрения это должно характеризоваться смещением обоих редокс-потенциалов:  $E_0 \text{ п/п}^-$  в положительную сторону и  $E_0 \text{ п/п}^+$  в отрицательную сторону. Один из методов оценки реакционной способности хлорофилла был использован В. Б. Евстигнеевым <sup>(1)</sup>. О потенциале фотовосстановленного хлорофилла судили по потенциалу окисления партнера (аскорбиновой кислоты). Идея определения потенциала окисления синглетно и триплетно возбужденных молекул пирохлорофилла по потенциалу восстановления партнера (ряд нитросоединений) была использована Сили <sup>(2)</sup>. В водных растворах им найдены значения потенциалов окисления для триплетно ( $-0,78 \text{ в}$ ) \* и синглетно ( $-1,36 \text{ в}$ ) \* возбужденных состояний пирохлорофилла.

Таблица 1

Характеристики хлорофилла а (по данным Сили <sup>(5)</sup>). Потенциалы приведены относительно нормального каломельного электрода

| $E_{1/2} \text{ хл/хл}^+$ | $E_{1/2} \text{ хл/хл}^-$ | $W_S$            |      | $W_T$            |      | $E \text{ хл}_S^*/\text{хл}^+$ | $E \text{ хл}_T^*/\text{хл}^+$ | $E \text{ хл}_S^*/\text{хл}^-$ | $E \text{ хл}_T^*/\text{хл}^-$ |
|---------------------------|---------------------------|------------------|------|------------------|------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
|                           |                           | см <sup>-1</sup> | эв   | см <sup>-1</sup> | эв   |                                |                                |                                |                                |
| +0,48                     | -1,30                     | 15000            | 1,86 | 11500            | 1,42 | -1,37                          | -0,94                          | +0,56                          | +0,12                          |

Предпринятые нами попытки получить полярограмму возбужденного хлорофилла (хл) прямыми измерениями оказались неудачными. Наблюдаемые при освещении ячейки импульсной лампой ИФК-2000 на  $i-t$ -кривых фототок находились в пределах ошибки измерений и не позволяли построить искомую полярограмму. Причина этих неудач стала более ясной после появления работ <sup>(3, 4)</sup>, из которых следовало, что полярограмма возбужденного хлорофилла не может быть зарегистрирована на металлическом электроде, так как хлорофилл участвует в окислительно-восстановительных реакциях обратимо.

Значения потенциалов возбужденного состояния хлорофилла были впервые рассчитаны Сили <sup>(5)</sup> из двух величин: темнового окислительно-восстановительного потенциала и энергии синглетных и триплетных возбужденных состояний пигментов. Полученные результаты приведены в табл. 1. Расчет был сделан путем прибавления (или отнятия) энергии

\* Все потенциалы в статье приведены относительно каломельного электрода.

возбужденного состояния, выраженного в электроновольтах, к потенциалу темнового состояния. Однако исходные данные  $E_{1/2}$  хл/хл<sup>-</sup> и  $W_T$  к настоящему времени уточнены. Для случая восстановления хлорофилла Сили использовал потенциал -1,30 в, который отвечает необратимому восстановлению пигмента с участием протона. Нами было показано, что в апротонной

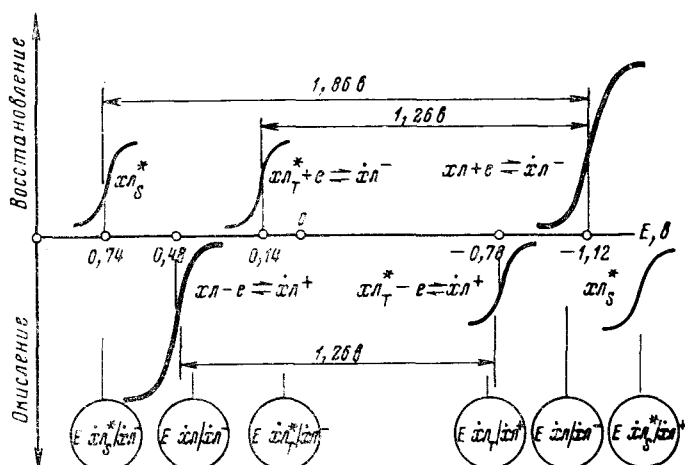


Рис. 1. Схема расчета окислительно-восстановительных потенциалов хлорофилла в основном и возбужденном состояниях

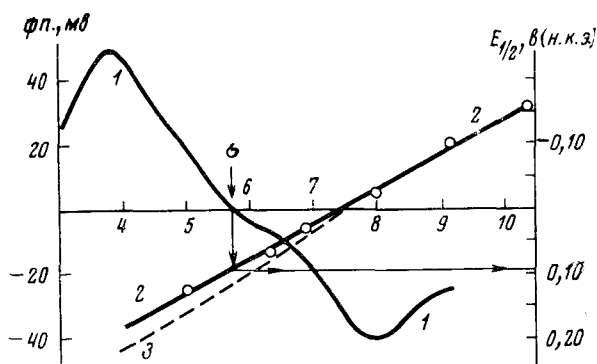


Рис. 2. Оценка потенциала восстановления триплетно-возбужденного хлорофилла. 1 — зависимость фотопотенциала (фп) от pH раствора для системы хлорофилл — гидрохинон в 80%-ном этаноле; 2 — зависимость  $E_{1/2}$  окисления гидрохинона в 80%-ном этаноле от pH раствора; 3 — зависимость  $E_{1/2}$  окисления гидрохинона от pH для водного раствора

среде (ДМФА) восстановление протекает обратимо при  $E_{1/2} = -1,12$  в с образованием хл<sup>-</sup>. Таким образом, за основу расчета следует брать  $E^0$  хл/хл<sup>+</sup> = -1,12 в. Для энергии триплета в последнее время принято значение 9900–10200 см<sup>-1</sup> (7, 8), что соответствует 1,26 эв (у Сили — 11500 см<sup>-1</sup>).

Универсальной характеристикой реакционной способности возбужденного состояния пигмента, по аналогии с темновыми редокс-реакциями, являлось бы понятие стандартных окислительно-восстановительных потенциалов ( $E^0$ ). Эта величина не могла быть введена ранее, так как не была известна обратимость реакций восстановления или окисления возбужденных состояний хлорофилла. Обнаружение хемилюминесценции при электрохимическом восстановлении и окислении хлорофилла (9) указывает, по нашему мнению, на обратимость реакции хл<sup>+</sup> + e ⇌ хл<sup>-</sup> и хл<sup>-</sup> - e ⇌ хл<sup>+</sup>. Это

обосновывает введение понятия стандартных окислительно-восстановительных потенциалов для возбужденных молекул. Введение нами  $E^0$  и использование исправленных значений  $E_{1/2}^0$  хл/хл<sup>-</sup> и  $W_T$  позволило дать схему, представленную на рис. 1. Эта схема, в отличие от табл. 1 Сили, представлена в виде полярограмм темнового и возбужденного состояний пигмента. Она позволяет наглядно оценить реакционную способность хлорофилла в темновом и возбужденных состояниях для реакций восстановления и окисления. Из полярограмм также можно оценить значения потенциалов при любом отношении окисленной и восстановленной форм пигмента. Для этого высота должна быть разделена в необходимом отношении.

Потенциал восстановления возбужденного хлорофилла экспериментально не оценивался. По нашему мнению, это значение может быть найдено

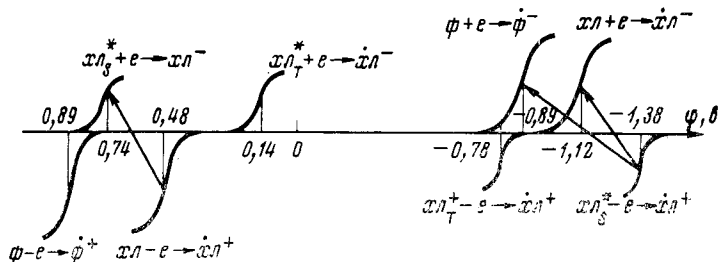


Рис. 3. Окислительно-восстановительные потенциалы возбужденного хлорофилла и возможность пигмент-пигментного взаимодействия при фотохимических реакциях

из зависимости фотопотенциала от рН. Возникающий при фотохимических реакциях хлорофилла отрицательный фотопотенциал может быть использован как индикатор фотохимического восстановления хлорофилла. Глубина фотореакции, а следовательно, и величина фотопотенциала зависят от рН среды (<sup>10</sup>) и определяются изменением потенциала партнера хлорофилла, например, гидрохинона. На рис. 2 точка б (кривая 1) отражает начало реакции фотохимического восстановления хлорофилла и в этом случае  $E$  хл/хл<sup>-</sup> несколько положительнее, чем потенциал систем хинон/гидрохинон. В этих условиях мы нашли (кривая 2), что гидрохинон обратимо окисляется с  $E_{1/2}^0 = +0,08$  в. Учитывая косвенность этого метода, можно считать такое совпадение с теоретической величиной  $E$  хл<sup>\*</sup>/хл<sup>-</sup> =  $+0,14$  в приемлемой. Полученные данные доказывают положение, что темновые редокс-потенциалы при возбуждении смещаются на величину энергии триплета или синглета соответственно. Схема расчета может быть использована для оценки  $E^0$  других фотосенсибилизаторов.

Из рис. 1 следует, что значение потенциалов синглетно возбужденного хлорофилла перекрывают темновые редокс-потенциалы. Например,  $E^0$  хл<sub>s</sub>/хл<sup>+</sup> <  $E^0$  хл/хл<sup>-</sup> на величину  $\Delta E_1^0 = 0,26$  в. Подобное перекрытие имеет место и в положительной области потенциалов. Таким образом, в ДМФА вероятен перенос между возбужденной и невозбужденной молекулами хлорофилла с образованием хл<sup>+</sup> и хл<sup>-</sup>. Обоснование возможности подобного переноса электрона разностью потенциалов  $\Delta E_1^0 = 0,26$  склоняет нас к поддержанию гипотезы Евстигнеева (<sup>11</sup>) о пигмент-пигментном взаимодействии в реакционном центре фотосинтеза, содержащем димер хлорофилла. Для бактериального фотосинтеза существуют данные, что в реакционном центре наряду с двумя молекулами хлорофилла имеются также четыре молекулы феофитина (фе) (<sup>12</sup>). Это указывает на возможное участие феофитина в работе реакционного центра. Для пары хл—хл разница потенциала окисления хл<sup>\*</sup> и восстановления темнового хлорофилла  $\Delta E_1^0 = 0,26$  в. По нашим полярографическим измерениям  $E$  фе/фе<sup>-</sup> =  $-0,89$  в, т. е.

для пары хл<sup>+</sup>—фе эта разница  $\Delta E_{II}^0 = 0,49$  в. Столь большая величина  $\Delta E_{II}^0$  указывает на большую вероятность переноса электрона с синглетно возбужденного хлорофилла на феофитин. В то же время потенциал окисления фео<sup>-</sup> ( $-0,89$  в) достаточен для восстановления первичного акцептора, например, ферредоксина ( $E^0 = -0,72$  в) с большой скоростью. Эти схемы представлены на рис. 3 справа. На этом же рисунке слева видно, что перенос электрона с феофитина ( $E^0$  фео/фе<sup>+</sup>  $= +0,86$  в) (<sup>13</sup>) на синглетно возбужденный хлорофилл невозможен.

Конечно, наиболее веским обоснованием этой гипотезы было бы экспериментальное обнаружение пигмент-пигментного взаимодействия, хотя бы в модельных системах.

Институт фотосинтеза  
Академии наук СССР  
Пушино Московской обл.

Поступило  
22 VII 1975

#### ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, Биофизика, т. 10, № 5, 770 (1965). <sup>2</sup> G. R. Seely, J. Phys. Chem., v. 73, 117 (1969). <sup>3</sup> H. Tribusch, M. Calvin, Photochem. Photobiol., v. 14, 95 (1972). <sup>4</sup> H. Tribusch, Photochem. Photobiol., v. 16, 261 (1972). <sup>5</sup> G. R. Seely, In: The Chlorophylls, N. Y., 1966, p. 540. <sup>6</sup> Б. А. Киселев, Ю. Н. Козлов, В. Б. Евстигнеев, Биофизика, т. 15, № 4, 594 (1970). <sup>7</sup> С. Паркер, Фотолюминесценция растворов, М., «Мир», 1972, стр. 298. <sup>8</sup> А. А. Красновский (мл.), В. А. Романюк, Ф. Ф. Литвин, ДАН, т. 209, № 4, 965 (1963). <sup>9</sup> А. А. Красновский (мл.), Ф. Ф. Литвин, Биофизика, т. 17, № 5, 764 (1972). <sup>10</sup> В. Б. Евстигнеев, В. А. Гаврилова, Молек. биол., т. 2, 869 (1968). <sup>11</sup> В. Б. Евстигнеев, В сб. Биохимия и биофизика фотосинтеза, М., «Наука», 1965, стр. 66. <sup>12</sup> F. Reiss-Husson, G. Jolchine, Biochim. et biophys. acta, v. 256, 440 (1972). <sup>13</sup> A. Stanienda, Zs. phys. Chem., B. 229, 257 (1965).