

Л. И. БОГУСЛАВСКИЙ, А. Г. ВОЛКОВ, М. Д. КАНДЕЛАКИ,
Е. А. НИЖНИКОВСКИЙ

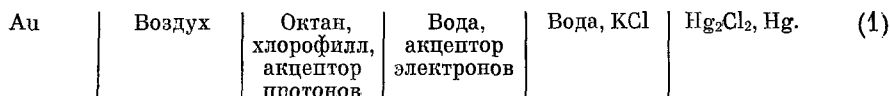
ФОТООКИСЛЕНИЕ ВОДЫ И ТРАНСПОРТ ПРОТОНОВ ЧЕРЕЗ ГРАНИЦУ РАЗДЕЛА ФАЗ ДВУХ НЕСМЕШИВАЮЩИХСЯ ЖИДКОСТЕЙ В ПРИСУТСТВИИ ХЛОРОФИЛЛА

(Представлено академиком А. Н. Фрумкиным 26 XI 1975)

Как было показано Хиллом, хлоропласты способны осуществлять реакцию разложения воды, сопряженную с восстановлением феррицианида калия. К сожалению, до настоящего времени мало что известно о механизме этой реакции и условиях ее протекания. Окончательно не определены вещества, принимающие участие в этом процессе (¹).

В последнее время в различных лабораториях интенсивно исследуются окислительно-восстановительные и фотохимические свойства хлорофилла на границе раздела двух несмешивающихся жидкостей (^{2, 3}), на границе раздела липид/вода и вода/воздух (^{4, 5}), а также в бислойных липидных мембранах (^{6, 7}). В настоящей работе на модельной системе октан/вода предпринята попытка осуществить на свету в присутствии хлорофилла процесс, результатом которого, так же как и результатом реакции Хилла, было бы разложение воды, сопровождающееся выделением кислорода.

Из полученных в настоящей работе данных следует, что хлорофилл способен при освещении катализировать три сопряженных реакции: разложение воды, восстановление акцептора электронов (НАДФ, НАД, $K_3Fe(CN)_6$) и перенос протонов из воды в липид при наличии там акцептора этих частиц — динитрофенола. Перенос протонов через границу раздела фаз может быть обнаружен по изменению скачка потенциала на границе раздела октан/вода при измерении вольта-потенциала в цепи:



Методика измерения вольта-потенциала в цепи (1) описана нами ранее (^{2, 3, 8-10}). Освещение границы раздела фаз производилось при помощи осветителя ОИ-24 с лампой накаливания мощности 100 вт. Спектральные зависимости снимали при помощи интерференционных светофильтров с шириной полосы 20 нм.

Для определения элементарного кислорода в настоящей работе применен метод поляризационных измерений на каплюющем электроде из In—Hg с содержанием In 54,8%. Чувствительность метода была повышена благодаря тому, что ток восстановления вещества усиливался максимумами второго рода * (¹¹). При этом форма поляризационных кривых не искажалась, что позволило исследовать зависимость предельного тока от концентрации деполяризаторов (в нашем случае от времени освещения системы, которое определяет количество образовавшегося кислорода). Метод позволяет надежно определять концентрации вещества до $5 \cdot 10^{-7}$ М.

* Метод был разработан в Институте электрохимии АН СССР Е. А. Нижниковским и будет опубликован в журнале «Электрохимия».

Для большей надежности полученные результаты были проверены на капиллярах с обычными полярографическими характеристиками, а также на сплавах In—Hg с другим соотношением компонентов и на ртути. Для

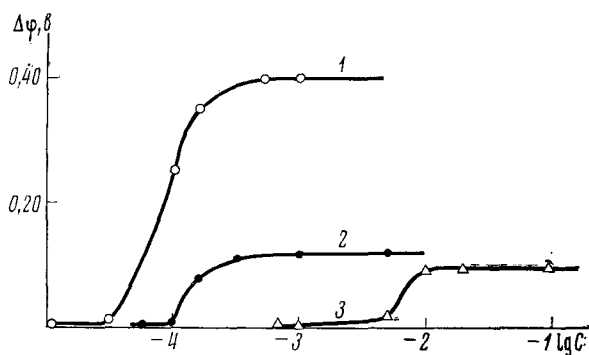
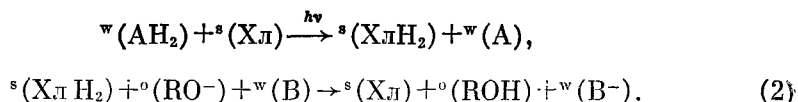


Рис. 1. Зависимость вольта-потенциала, измеренного в цепи (1), от концентрации акцептора электронов в водной фазе. 1 — НАДФ, 2 — НАД, 3 — $K_3Fe(CN)_6$. Среда: $2 \cdot 10^{-2}$ М трис-НСl, 1 мМ ДНФ, 10 мкг/мл хлорофилла, pH 7,4, $I = 100$ мвт/см²

В предыдущей работе (3) было показано, что хлорофилл в присутствии донора протонов (НАД-Н, аскорбат), акцептора электронов — В (феррицианид) в водной фазе и акцептора протонов — RO^- в неводной фазе (динитрофенол) способен к переносу протонов через границу раздела фаз под действием света. Формально эта реакция является аналогом реакции Красновского, протекающей, однако, не в гомогенной среде, а на границе раздела фаз (13):



Индексы w, s и o означают, что ингредиенты находятся соответственно в водной фазе, на межфазной границе или в масляной фазе.

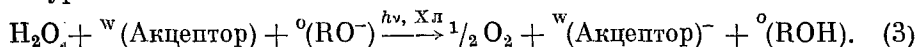
В настоящей работе условия эксперимента были подобраны таким образом, что вода была донором протонов и электронов (AH_2), а в качестве акцепторов электронов использованы НАДФ, НАД и $K_3Fe(CN)_6$. Акцептором протонов в октане, как и ранее, служил 2,4-динитрофенол (ДНФ). В качестве модели липидной фазы был использован октан (2, 3, 9, 10).

При попадании квантов света на границу раздела фаз в цепи (1) в присутствии хлорофилла, ДНФ и акцептора (НАДФ, НАД и $K_3Fe(CN)_6$) происходит изменение потенциала в цепи (1), соответствующее переносу положительных зарядов в фазу октана. На рис. 1 представлены зависимости скачка потенциала на границе раздела октан/вода от концентрации различных акцепторов электронов. Как видно из рисунка, наиболее эффективным из трех использованных акцепторов оказался НАДФ.

Величина наблюдаемого эффекта зависела от длины волны падающего света (рис. 2) и интенсивности облучения. Полученный спектр действия напоминает спектр поглощения «красной» формой хлорофилла (3, 13), а так как единственным источником водорода в системе, содержащей H_2O , ДНФ, хлорофилл, акцептор и трис-буфер, является вода, то можно предположить, что при освещении наблюдается разложение воды с переносом водорода сначала на хлорофилл и затем на анион ДНФ* со-

* Динитрофенол может выступать также в роли основания Льюиса (14).

гласно уравнению



Если бы реакция (3) действительно имела место, то в результате ее протекания выделялся бы кислород и образовывалась бы восстановленная форма акцептора, которые мы пытались обнаружить полярографически.

На рис. 3 (кривые 1–14) представлены поляризационные кривые, снятые на канальном In–Hg-электроде в системах, содержащих октан, воду,

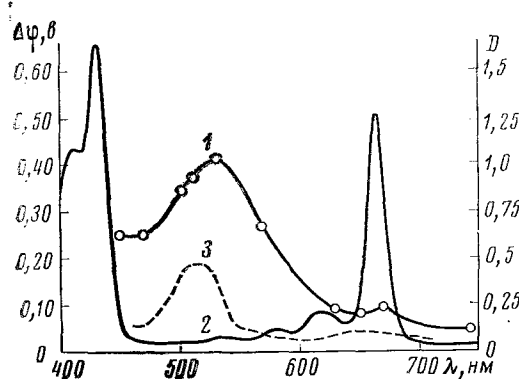


Рис. 2

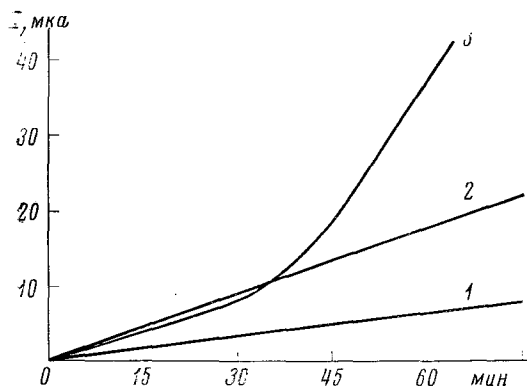


Рис. 4

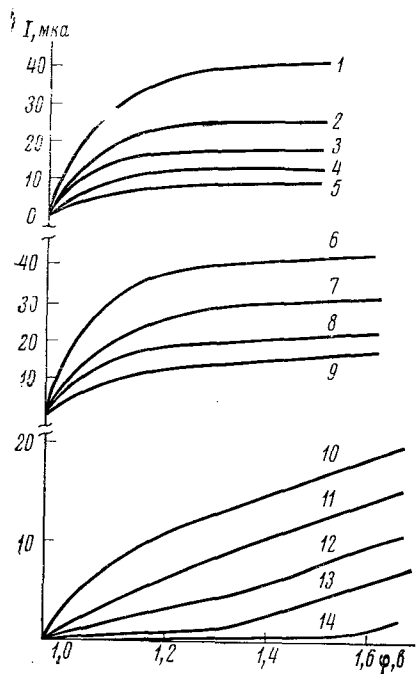


Рис. 3

Рис. 2. Зависимость изменения скачка потенциала на границе раздела фаз и коэффициента поглощения хлорофилла в октане от длины волны возбуждающего света. 1 – спектр действия, измеренный в цепи (1) (среда: $2 \cdot 10^{-2}$ M трис-НСI, 1 мМ ДНФ, $3 \cdot 10^{-4}$ M НАДФ, 10 мкг/мл хлорофилла, pH 7,4); 2 – спектр поглощения исходной формы хлорофилла, растворенного в октане; 3 – спектр «красной» формы хлорофилла

Рис. 3. Поляризационные кривые в системе, содержащей НАДФ (1–5), НАД (6–9) или $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (10–14). Среда: 1 мМ ДНФ, 20 мМ трис-НСI, 10 мкг/мл хлорофилла и 10^{-4} M НАДФ или НАД (или 10^{-2} M $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$), pH 7,4. Время экспозиции: 5, 9, 14 – 0 мин.; 4, 8, 13 – 15 мин.; 3, 7, 12 – 30 мин.; 2, 6, 11 – 45 мин.; 1, 10 – 60 мин.

Рис. 4. Зависимость величины предельного тока восстановления кислорода от времени освещения при использовании разных акцепторов электрона. Среда – см. рис. 3. 1 – НАД, 2 – НАДФ, 3 – $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$

хлорофилл, трис-буфер, ДНФ и разные акцепторы электронов. Кривые 5, 9 и 14 сняты в неосвещенных системах, приведены в качестве контроля и соответствуют восстановлению компонентов системы*. Выделение кисло-

* Не наблюдалось выделения кислорода, если в полной системе отсутствовал один из компонентов: хлорофилл, акцептор электронов в воде (НАД, НАДФ, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) или динитрофенол. В отсутствие фазы октана не наблюдалось ни генерации потенциала в цепи (1), ни выделения кислорода.

рода при протекании редокс-реакции на межфазной границе было идентифицировано по потенциалу полуволны восстановления кислорода, который соответствовал предварительно определенному значению 0,9 в относительно насыщенного каломельного электрода. Увеличение предельного тока восстановления кислорода по мере увеличения времени освещения свидетельствует о накоплении O_2 в системе. Контрольными опытами была проверена герметичность ячейки: поляризационными измерениями показано отсутствие проникновения кислорода в течение 5 час.

Дополнительные измерения, проведенные на ртутном капельном электроде, подтвердили данные, полученные на $In-Hg$ -электроде. При мощности источника освещения 300–400 Вт и времени экспозиции 30 мин. концентрация кислорода в ячейке достигала 10^{-4} М и определялась обычным полярографическим методом.

Нам удалось также обнаружить возникновение восстановленного акцептора, в данном случае $K_4Fe(CN)_6$, который должен возникать при протекании реакции (3). Анодная волна окисления ферроцианида возникала после освещения в указанных выше условиях и имела потенциал полуволны +0,2 в относительно насыщенного каломельного электрода. Из сопоставления предельных токов специально введенного в эту систему ферроцианида с образовавшимся в результате реакции (3) оказалось, что концентрация продукта реакции составляет примерно 10^{-4} М. Существенно, что для определения истинной концентрации ферроцианида необходимо было перемешать раствор, что является дополнительным указанием на то, что он образуется не равномерно в объеме раствора, а на межфазной границе.

На рис. 4 представлены зависимости предельного тока восстановления кислорода от времени освещения. Кривые 1 и 2 на рис. 4 показывают, что при использовании в качестве акцептора НАД и НАДФ содержание кислорода в данных системах прямо пропорционально времени освещения. Кривая 3 (акцептор — феррицианид) показывает увеличение содержания кислорода непропорционально времени экспозиции, что, возможно, указывает на стимулирование процесса выделения кислорода одним из продуктов реакции. Вопрос этот требует, однако, дальнейшего исследования.

При возбуждении светом молекул хлорофилла, адсорбированных на границе раздела фаз, имеет место такое перераспределение протонов и электронов в реакционном комплексе (H_2O , хлорофилл, акцептор RO^-), которое приводит к разложению молекулы воды, сопровождающемуся переносом протонов на акцептор протонов в октане и переносом электронов на акцептор электронов в водной фазе.

Авторы выражают благодарность акад. А. Н. Фрумкину за обсуждение работы.

Институт электрохимии
Академии наук СССР
Москва

Поступило
26 XI 1975

ЛИТЕРАТУРА

- ¹ H. Metzner, J. Theor. Biol., v. 51, 201 (1975). ² А. Г. Волков, Б. Т. Ложкин, Л. И. Богуславский, ДАН, т. 220, 1207 (1975). ³ Л. И. Богуславский, А. Г. Волков, ДАН, т. 224, № 5 (1975). ⁴ S. S. Brody, Zs. Naturforsch., B. 30c, 318 (1975). ⁵ M. Costa, G. Porter, Proc. Roy. Soc. Lond. A, v. 341, 167 (1974). ⁶ H. Tien, V. Kai Hwa Chen, Progr. Surf. and Membr. Sci., v. 8, 119 (1974). ⁷ Л. И. Богуславский, Б. Т. Ложкин, В. А. Киселев, ДАН, т. 222, 228 (1975). ⁸ Л. И. Богуславский, А. Г. Волков и др., Биоорганическая химия, т. 1, № 9 (1975). ⁹ Л. И. Богуславский, А. Г. Волков и др., ДАН, т. 219, 963 (1975). ¹⁰ Л. И. Богуславский, А. Г. Волков и др., ДАН, т. 222, 726 (1975). ¹¹ Я. Гейровский, Я. Кута, Основы полярографии, М., «Мир», 1965, стр. 423. ¹² Пигменты пластид зеленых растений и методика их исследований, М., «Наука», 1964. ¹³ А. А. Красновский, Преобразование энергии при фотосинтезе, М., «Наука», 1974. ¹⁴ Л. С. Ягужинский, Л. И. Богуславский и др., ДАН, т. 221, 1465 (1975).