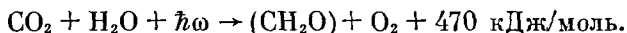


ФОТОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

§ 14.1. Фотосинтез

Биоэнергетические процессы, описанные в предыдущих главах и сводящиеся к запасанию химической энергии АТФ и ее расходованию, являются темновыми, они происходят без участия света. В этой главе мы рассмотрим важнейшие фотобиологические процессы.

Фотосинтез в зеленых растениях определяет существование всех высших форм жизни, так как кислород в атмосфере Земли образован именно в результате фотосинтеза (см. § 17.1). Суммарное уравнение фотосинтеза имеет вид

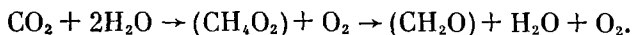


Здесь $\hbar\omega$ — квант света, (CH_2O) — фрагмент молекулы углевода. При фотореакции выделяется энергия 470 кДж/моль. Изменение свободной энергии составляет 504 кДж/моль, следовательно, изменение энтропии равно — 113 Дж/(моль · К) (при 300 К). На образование одной молекулы O_2 расходуется 8 квантов света (см. с. 448) с суммарной энергией около 1470 кДж/моль. Тем самым коэффициент использования солнечной энергии равен $500/1470 = 0,34$. Выделение ~470 кДж/моль энергии следует из баланса:

Энергия двух связей С = О в CO_2	798 × 2 = 1596
Энергия двух связей О — Н в H_2O	462 × 2 = 924
	Итого 2520
Энергия связи О = О в O_2	487
Энергия двух связей С — Н в формальдегиде CH_2O	386 × 2 = 772
Энергия связи С = О в CH_2O	798
	Итого 2057

$$2520 - 2057 = 463 \text{ кДж/моль.}$$

Эта же величина следует из окислительно-восстановительного потенциала пары $1/2\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$, равного +0,81 эВ, и пары $\text{CO}_2/\text{CH}_2\text{O} + \text{H}_2\text{O}$, равного —0,40 эВ. Итого 1,21 эВ. В фотосинтезе для восстановления CO_2 до углевода нужно перенести 4 атома водорода с H_2O на CO_2 :



Баланс энергии: $1,21 \cdot 4 = 4,84 \text{ эВ} \equiv 470 \text{ кДж/моль.}$

Таким образом, фотосинтез в зеленых растениях означает реакцию между окислителем CO_2 и восстановителем H_2O , в которой 4 электрона (или 4 атома H) переносятся «вверх», преодолевая разность потенциалов около 1,2 В, что показано схематически на рис. 14.1. При бактериальном фотосинтезе вместо воды

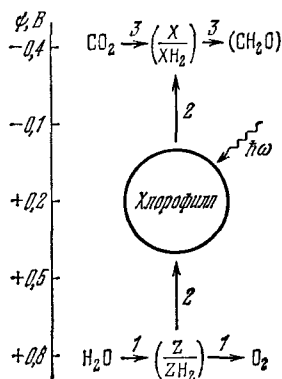


Рис. 14.1. Схема фотосинтеза: 1 — ферментативное превращение H_2O в O_2 , 2 — перенос водорода от промежуточного вещества Z/ZH_2 к X/XH_2 в последовательности ферментативных стадий с помощью активированного светом хлорофилла, 3 — ферментативное превращение CO_2 в (CH_2O) .

может фигурировать H_2S ; при этом редокс-потенциал $\text{H}_2\text{S}/\text{S}$ составляет лишь 0,2 В. Энергия, необходимая для реакции, подается светом. Первая стадия процесса состоит в поглощении света пигментами, среди которых наиболее важен *хлорофилл*. Тимирязев показал, что спектр действия солнечного света при фотосинтезе соответствует спектру поглощения хлорофилла. На рис. 14.2 приведены структурные формулы важнейших пигментов растений; на рис. 14.3 показаны полосы поглощения пигментов.

Фотосинтез можно определить как процесс фотоиндуцированного электронного транспорта, конечным результатом которого является усвоение CO_2 . Скорость фотосинтеза зависит от интенсивности падающего света I . Грубо говоря, скорость образования некоего субстрата пропорциональна числу поглощенных квантов. Этот неустойчивый субстрат преобразуется далее в ферментативных процессах. Опыт показывает, что для продукции одной молекулы O_2 нужно $n \approx 8$ молекул субстрата. На один ферментативный комплекс или на одну молекулу обобщенного фермента (*фотосинтетическая единица*) приходится около 300 молекул хлорофилла (50 в фотосинтезирующих бактериях).

Скорость фотосинтеза можно представить эмпирической формулой, подобной формуле Михаэлиса — Ментен (с. 178):

$$v = \frac{(k_E/n) EI}{K + I}, \quad (14.1)$$

где k_E — константа скорости ферментативной реакции, $n \approx 8$, E — концентрация фермента.

Скорость v зависит от температуры. При большой интенсивности падающего света $I \gg K$ наступает насыщение, $v_{\max} =$

$= k_E E/n$. Величина k_E находится путем измерения зависимости выхода O_2 от продолжительности интервалов времени между вспышками t_s при импульсном освещении. Среднее время, необходимое для превращения одной молекулы субстрата, составляет $\sim 0,02$ с. Иными словами, $k_E = 1/0,02 = 50$ (c^{-1}). Концентрация

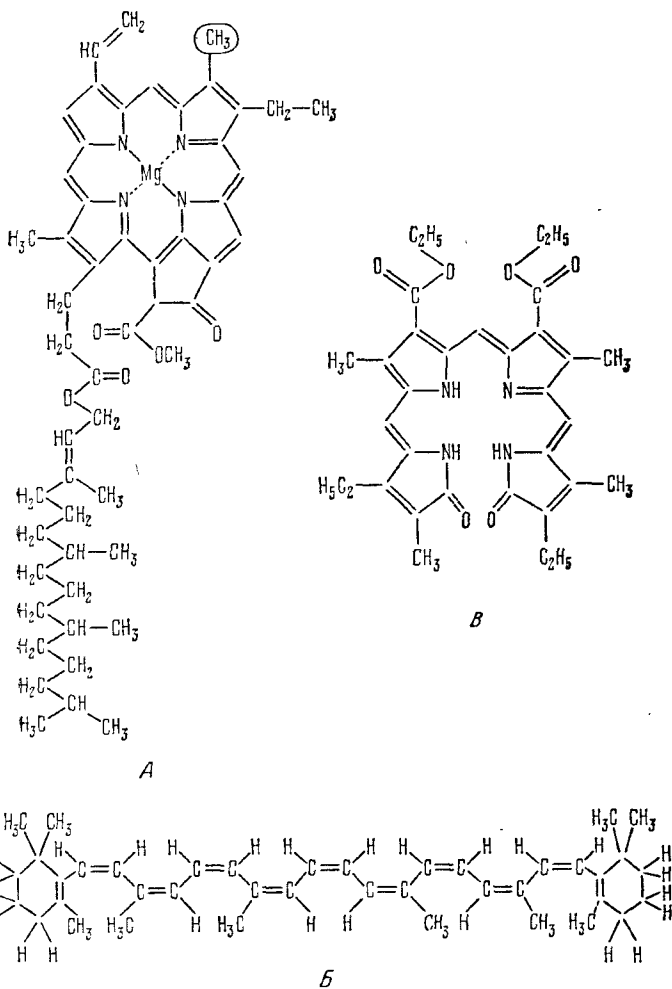


Рис. 14.2. Структурные формулы некоторых пигментов: А — хлорофилл а, В — хлорофилл б, обведенная овалом группа $-CH_3$ заменена на $-CH=O$; В — фикоэритробилин

$E = [Chl]/300$, $[Chl]$ — концентрация хлорофилла. Получаем $v_{max} = 50 [Chl]/n \cdot 300 \approx 0,02 [Chl] c^{-1}$. Максимальная скорость фотосинтеза при постоянном освещении равна одной молекуле O_2 на молекулу хлорофилла за 50 с.

Фотосинтетические единицы локализованы в *хлоропластах* — специальных органоидах клетки (см. § 14.4). В водных суспензиях хлоропластов с солями трехвалентного железа происходит *реакция Хилла* — фотохимическое выделение O_2 при участии добавленного окислителя. Наряду с Fe^{3+} таким окислителем могут быть хиноны, красители. Окислитель замещает систему $CO_2/(CH_2O)$. Источником O_2 при фотосинтезе *in vivo* и *in vitro* служит H_2O , а не CO_2 , что доказано с помощью меченых атомов ^{18}O . Независимо от фотосинтеза происходит дыхание, т. е. поглощение O_2 . На свету измеряется разность этих двух процессов. Скорость дыхания не зависит от освещения.

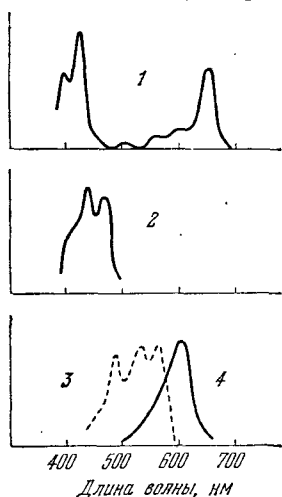
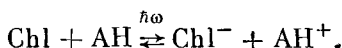


Рис. 14.3. Полосы поглощения хлорофилла *a* (1), каротиноида (2), фикоэририна (3) и фикоцианина (4). По оси ординат — оптическая плотность

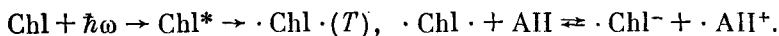
Основная проблема физики и химии фотосинтеза состоит в раскрытии механизма преобразования энергии света в химическую энергию. В 1948 г. была открыта модельная *реакция Красновского* — обратимое фотовосстановление хлорофилла:



Восстановителем, т. е. донором электронов, служил аскорбат AH . Восстановленный хлорофилл может быть окислен вновь. *In vivo* первая стадия процесса есть окисление хлорофилла. Возбужденные светом молекулы хлорофилла восстанавливаются в конечном итоге за счет воды. Электронные уровни хлорофилла показаны на рис. 14.4. В темноте молекула находится на нижнем синглетном уровне S_0 . Полосы поглощения Chl соответствуют переходам $S_0 \rightarrow S^*$ (в красной области спектра) и $S_0 \rightarrow S_1^*$ (в синей области). Обратный переход $S_1^* \rightarrow S^*$ — безызлучательный, переход $S^* \rightarrow S_0$ — флуоресцентный. С уровня S^* возможен и безызлучательный переход на метастабильный триплетный уровень T .

При поглощении света в состоянии T хлорофилл переходит в возбужденное триплетное состояние T^* . Теренин провел общее рассмотрение роли триплетных состояний в фотохимии красителей. Она определяется большим временем жизни и химической насыщенностью вследствие наличия неспаренных электронов. Обратимое фотовосстановление хлорофилла можно представить схемой

Схема фотовосстановления хлорофилла:

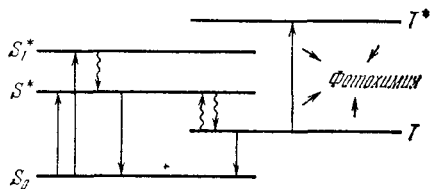


Точка изображает неспаренный электрон. Возникновение свобод-

ных радикалов при фотовосстановлении хлорофилла было доказано методом ЭПР.

Спектр поглощения Chl *a* имеет сложную полосу в красной области. Это заставляет думать о нескольких формах хлорофилла. Установлено наличие двух форм — Chl *a* и Chl *b*. Красная полоса поглощения смещается, когда листья растения, выросшего

Рис. 14.4. Электронные уровни хлорофилла по Красновскому



в темноте, постепенно зеленеют на свету. Спектр поглощения изменяется и при постепенной экстракции хлорофилла из листьев. Это объясняется наличием Chl *a* и Chl *b*, а также их различной агрегацией.

Энергия света, поглощенная хлорофиллом и другими пигментами, может запасаться, мигрировать от молекулы одного пигмента к молекуле другого и между тождественными молекулами, излучаться (флуоресценция и фосфоресценция) и рассеиваться, превращаясь в тепло. Во всех случаях первичный акт фотохимического процесса состоит в поглощении света. По-видимому, одна из функций вспомогательных пигментов состоит в снабжении энергией хлорофилла *a*.

Спектром действия называется зависимость скорости продукции кислорода P от числа поглощенных квантов I_a и длины волны λ , т. е. функция

$$f(\lambda) = P/I_a. \quad (14.2)$$

Если P — число молекул O_2 , продуцируемых в 1 с, I_a — число квантов, поглощаемых в 1 с, то $f(\lambda) \equiv \Phi(\lambda)$ — квантовый выход фотосинтеза. При выделении одной молекулы O_2 поглощается 8 квантов. Кривая $\Phi(\lambda)$ для хлореллы показана на рис. 14.5. Характерно «красное падение» — резкое уменьшение $\Phi(\lambda)$ в области 680 нм. Оно наблюдается и в спектре действия реакции Хилла. Но при этом хлоропласты продолжают поглощать свет.

Красная полоса Chl *a* состоит из двух компонентов, 670 и 680 нм, примерно равной интенсивности. Есть указания и на третью слабую компоненту при 695 нм. Может быть, эти компоненты отвечают разным формам Chl *a*, различающимся фотохимической эффективностью, чем и объясняется «красное падение»?

Действительное объяснение более сложно. Существует эффект Эмерсона, состоящий в том, что свет, неэффективный в далекой красной области, становится эффективным при одновременном освещении системы более коротковолновым светом, например при комбинированном воздействии светом с $\lambda = 700$ и 650 нм.

Действие двойного облучения резко неаддитивно. Эффект Эмерсона выражается величиной

$$\varepsilon = (x - y)/z,$$

где x — скорость выделения O_2 при двойном облучении, y — при коротковолновом, z — при длинноволновом облучении. Значение

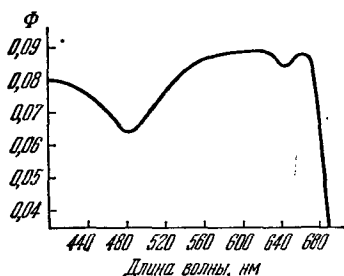


Рис. 14.5. Спектр действия для хлореллы

ε особенно велико, когда большая часть добавочного длинноволнового света поглощается вспомогательным пигментом. Для полной эффективности фотосинтеза нужно поглощение одного кванта хлорофиллом a и другого — вспомогательным пигментом. Красное падение происходит в области, в которой свет поглощает только $Chl a$. Детальное исследование показало, однако, что наряду с максимумами $\varepsilon(\lambda)$, соответствующими вспомогательным пигментам,

в полосе поглощения $Chl a$ имеется максимум при 680 нм. Этот максимум связан с резонансным переносом энергии возбуждения с других пигментов на активную форму $Chl a$.

§ 14.2. Две фотохимические системы

Изложенные факты и другие данные, в частности биохимическое разделение, доказывают, что в фотосинтезе участвуют две фотохимические системы ФС I и ФС II. В зеленых растениях ФС II содержит $Chl a$ с максимумами поглощения 670 и 680 нм, но не 695 нм. ФС I содержит все три формы $Chl a$. ФС II флуоресцирует сильно, ФС I — слабо. Кванты, поглощенные хлорофиллом 670 и 680 нм, переносятся в ФС I на $Chl a$ 695, и энергия их диссипирует, чем и объясняется низкий выход флуоресценции. ФС II содержит больше $Chl a$ 670, чем ФС I. Свет поглощается в обеих системах одновременно, но в разной степени. При $\lambda > 650$ нм в красных водорослях и при $\lambda > 680$ нм в зеленых водорослях система I получает избыточную, а система II недостаточную энергию — нарушается баланс, необходимый для совместной работы двух систем. Баланс этот улучшается при одновременном освещении более коротковолновым светом. Так объясняется эффект Эмерсона и «красное падение».

Если световые реакции, определяемые ФС I и ФС II, происходят последовательно, то можно установить спектр поглощения каждой системы, измерив спектры действия фотосинтеза при сильном, но не насыщающем воздействии светом, поглощаемым другой системой. Скорость общей реакции при этом определяется лимитирующим процессом. Если избыточный свет поглощается ФС I, то скорость реакции и спектр действия лимитируются ФС II,