

**ОБРАЗОВАНИЕ АССОЦИАТОВ ХЛОРОФИЛЛА
В РАСТВОРАХ АЦЕТОНА И ЭТАНОЛА**

С. А. АПОЯН, А. М. ОГАНИСЯН, С. М. ВАРДАПЕТЯН и Г. Ф. МКРТЧЯН

Ереванский государственный университет
Армения, 0025, Ереван, ул. А. Манукяна, 1
E-mail: svapoyan@ysu.am

Поступило 15 VI 2018

Изучено изменение удельной электропроводности и относительной вязкости хлорофилла и его производных в зависимости от концентрации хлорофилла. При высокой концентрации хлорофилла наблюдается отклонение от прямолинейности, обусловленное образованием ассоциатов. Двух- и трехмерные проекции флюоресценции хлорофилла доказывают наличие ассоциатов в концентрированных растворах хлорофилла. В зависимости от природы растворителя ассоциаты образуются при разных концентрациях хлорофилла.

Рис.11, библиографические ссылки 10.

Из литературы известно, что хлорофилл и его производные обладают антибактериальными и антиоксидантными свойствами, например, фармацевтический препарат «Хлорофиллипт», который обладает противовоспалительным действием. Он используется в медицине и ветеринарии при лечении онкологических заболеваний как средство фотодинамической терапии, а в косметологии и производстве парфюмерии – в качестве природного пигмента [1].

Принимая во внимание структурную особенность хлорофилла (металлический комплекс порфирина, который имеет большую молекулярную симметрию D-4h и двойные связи), ведутся работы по использованию хлорофилла в солнечных батареях. Однако хлорофилл, извлеченный из растений, под светом легко реструктурирует. Исследования показали, что стабильность хлорофилла высока в присутствии других пигментов (каротиноидов) растительной клетки [2]. В литературе мало публикаций о физико-химических свойствах хлорофилла в разных растворителях [3]. Поэтому извлечение хлорофилла из растений в раз-

ных растворителях, а также изучение физико-химических свойств этих растворов представляют научный и практический интерес. В настоящей работе изучены этанольные и ацетоновые растворы хлорофилла, извлеченные из шпината.

Экспериментальная часть

Экстракты хлорофилла и его производные получали из шпината [4, 5]. Листья шпината измельчали и, чтобы избавиться от водорастворимых компонентов, предварительно настаивали в дистиллированной воде, затем фильтровали, фильтрат сушили и делили на две равные части. К одной части добавили 96% ацетон, а ко второй – 96% этанол. Удельную электропроводность измеряли с использованием прибора “Jenwey 4330” (ошибка $5 \times 10^{-5} \text{C/см}$). Электронные спектры поглощения регистрировались с использованием спектрометра “Specord-50”. Флуоресценцию растворов исследовали с помощью флуоресцентного спектрофотометра “Cary Eclipse”. Вязкость измеряли при помощи вискозиметра “Ubelloday” при температуре 298 К. Концентрацию хлорофилла в растворах определяли сухим остатком и спектрофотометрически. Исследование проводили в малоосвещенном помещении при комнатной температуре.

Обсуждение результатов

На рис. 1 представлены спектры электронного поглощения водного и этанольного экстрактов листьев шпината. Кривая 1 на рис.1 показывает зависимость оптической плотности водного экстракта листьев шпината от длины волны поглощения, имеющей два максимума – 263 и 335 нм, что соответствует поглощению флавоноидов.

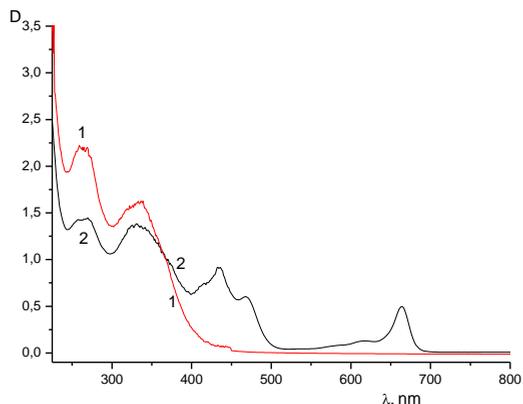


Рис. 1. Спектры электронного поглощения водного (1) и этанольного (2) экстрактов листьев шпината.

Кривая 2 на рис. 1 представляет зависимость оптической плотности этанольного экстракта листьев шпината от длины волны поглощения, где максимумы на длинах волн 263 и 335 нм также соответствуют поглощению флавоноидов. Поглощения, наблюдаемые в диапазоне 400-1000 нм, относятся к хлорофиллу и его производным.

На рис. 2 и 3 представлены спектры электронного поглощения ацетонового и этанольного растворов хлорофилла и его производных.

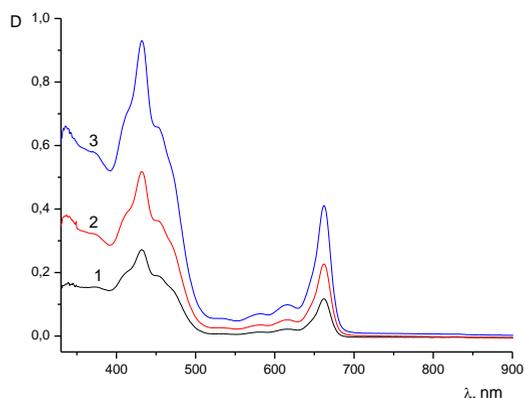


Рис. 2. Зависимость оптической плотности ацетонового раствора хлорофилла от длины волны при разных концентрациях хлорофилла, мг/мл: 1- 2.16; 2-4.27; 3-6.2

Спектры поглощения ацетонового раствора хлорофилла имеют максимумы на слое Сори при 432 и 454 нм и в Q-слое при 615 и 662 нм длины волны (см. рис. 2). Этанольные растворы хлорофилла имеют максимумы на слое Сори при 434 и 465 нм и в Q-слое на длине волны 614 и 665 нм (рис. 3). Значения полученных максимумов соответствуют данным, представленным в литературе [6].

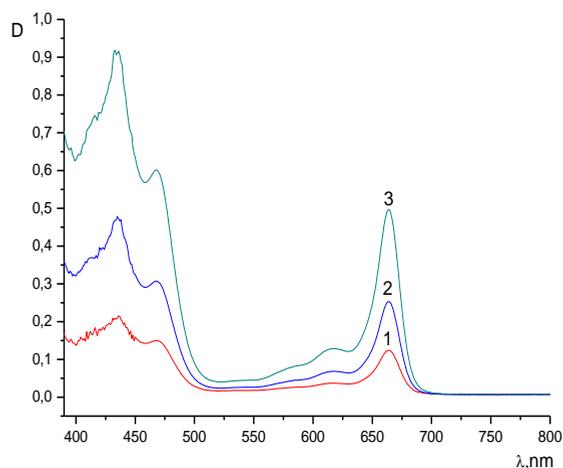


Рис. 3. Зависимость оптической плотности этанольного раствора хлорофилла от длины волны при разных концентрациях хлорофилла, мг/мл: 1-1.2; 2-2.4; 3-4.8.

На основании полученных спектральных данных были рассчитаны количества хлорофилла а, b и каротиноидов в исследуемых растворах по методике, описанной в работе[7].

В этанольном растворе:

$$C_a(\text{мг/мл})=13.36D_{664.1}-5.19D_{648.6}$$

$$C_b(\text{мг/мл})=27.43D_{648.6}-8.12D_{664.1}$$

$$C_{\text{кар.}}(\text{мг/мл})=(1000A_{470}-2.13C_a-97.64C_b)/209$$

В ацетоновом растворе:

$$C_a(\text{мг/мл})=11.24D_{661.6}-2.04D_{644.8}$$

$$C_b(\text{мг/мл})=20.13D_{644.8}-4.19D_{661.6}$$

$$C_{\text{кар.}}(\text{мг/мл})=(1000A_{470}-1.90C_a-63.14C_b)/214,$$

где C_a , C_b , и $C_{\text{кар}}$ – концентрация хлорофиллов а, b и каротиноидов, мг/л; D – оптическая плотность при длине волны в формуле.

Закономерности образования ассоциатов в экстрактах хлорофилла изучены методами кондуктометрии, вискозиметрии и флуоресцентной спектроскопии.

На рис. 4 показаны зависимости удельной электропроводности ацетонового (кр.1) и этанольного (кр.2) растворов хлорофилла от концентрации хлорофилла. Из рисунка видно, что есть отклонение от прямолинейности, указывающее на изменение физико-химических свойств растворов. В то же время отклонение от прямолинейности у ацетонового раствора хлорофилла начинается в более низких концентрациях хлорофилла (5 мг/мл), чем этанольного раствора (10 мг/мл) ($\epsilon(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) = 27$, $\epsilon(\text{C}_3\text{H}_6\text{O}) = 21$).

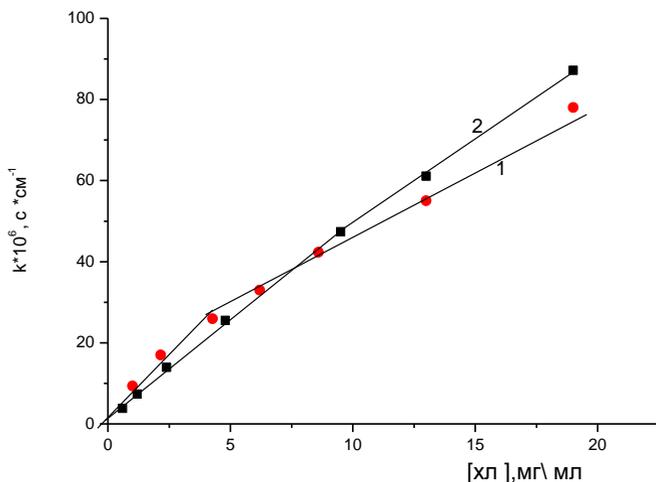


Рис. 4. Зависимость удельной электропроводности от концентрации хлорофилла в ацетоновом (1) и этанольном (2) растворах.

Для объяснения полученных закономерностей исследовали вязкость этих растворов.

Кривые, выражающие зависимости относительной вязкости от концентрации хлорофилла, приведены на рис. 5, из которого видно, что отклонение от прямолинейности относительной вязкости наблюдается практически при той же концентрации, что и в случае электропроводности.

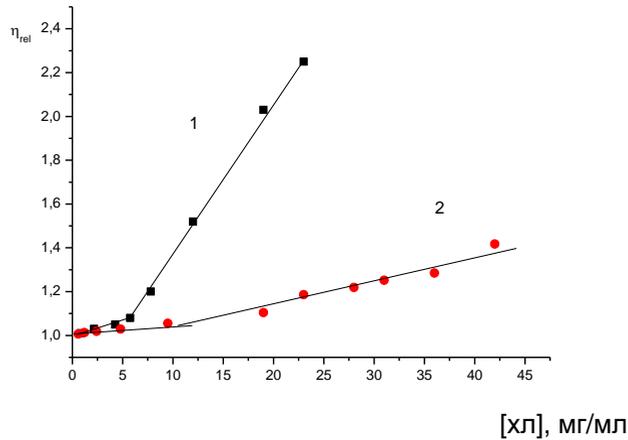


Рис. 5. Зависимость относительной вязкости растворов от концентрации хлорофилла в ацетоновом (1) и этанольном (2) растворах.

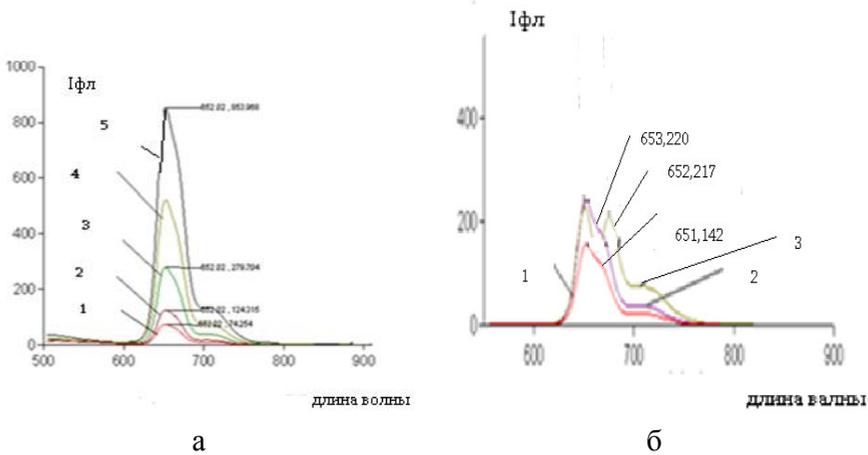


Рис. 6. Зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации хлорофилла в ацетоновом растворе, мг/мл : 1- 0.25; 2-0.5; 3 -1.0; 4- 2.0; 5-4.27 ; б- 1-5.75; 2-7.79; 3-12.1.

Следовательно, одной из причин такой картины изменения электропроводности является изменение вязкости, что связано с образованием ассоциатов [8]. Нами была изучена флуоресценция хлорофилла в экстракте. Длина волны возбуждаемого света 425 нм.

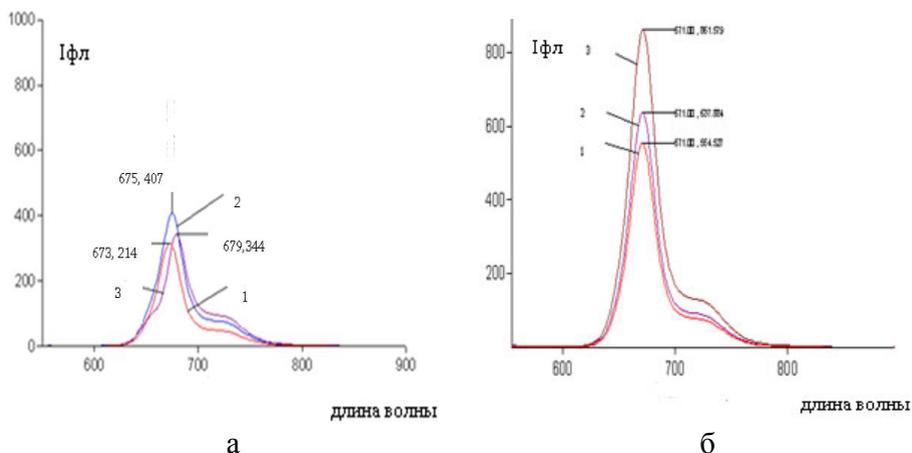


Рис. 7. Зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации хлорофилла в этанольном растворе, мг / мл: а- 1- 1.2; 2-2.4; 3-4.8; б- 1-9.6, 2-11.3, 3-19.

В растворе хлорофилл флуоресцирует в диапазоне от 650 до 750 нм. На рис. 6 и 7 показаны зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации хлорофилла в ацетоновом и этанольном растворах. В зависимости от образования ассоциатов максимумы поглощения сдвигаются в длинноволновую область спектра [9,10].

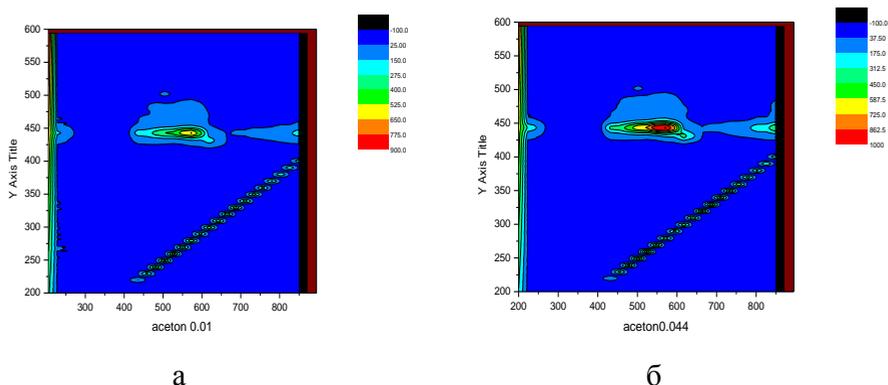


Рис. 8. 3D-изображение зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации хлорофилла в ацетоновом растворе, мг/мл: а– 1.0; б– 7.79.

Спектры флуоресценции показывают, что в случае более низких концентраций хлорофилла (рис.6-а и 7-а) интенсивность флуоресценции возрастает с увеличением концентрации, а в случае относительно высоких концентраций хлорофилла (рис.6-б и 7-б) с увеличением концентрации интенсивность флуоресценции уменьшается, т.е. происходит тушение флуоресценции.

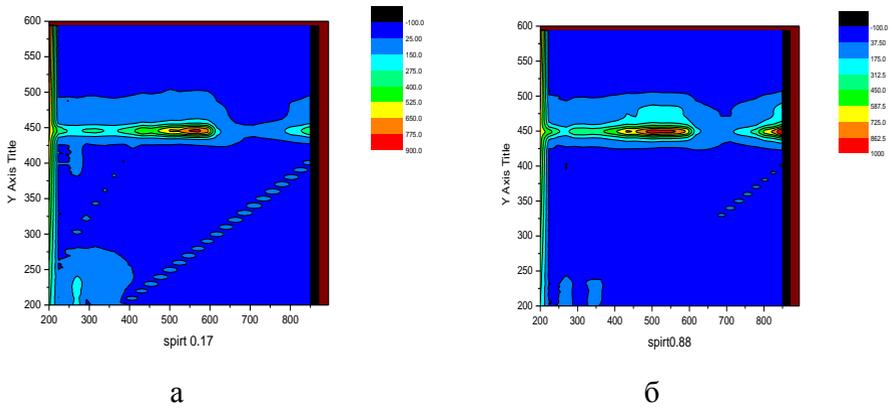


Рис. 9. 3D-изображение зависимости флуоресценции от концентрации хлорофилла в этанольном растворе, мг/мл: а -2.4; б -11.3.

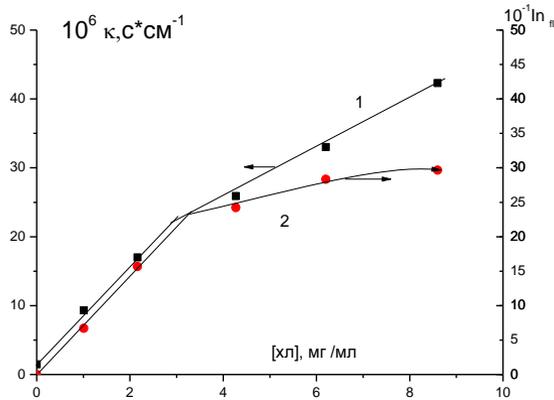


Рис. 10. Значения удельной электропроводности (1) и интенсивности флуоресценции (2) при различных концентрациях хлорофилла в ацетоновом растворе.

Это хорошо видно в трехмерном изображении флуоресценции хлорофилла в ацетоновом (рис. 8) и этанольном (рис. 9) растворах.

При сравнении изменения интенсивности флуоресценции хлорофилла с изменением удельной электропроводности (рис. 10 и 11) наблюдается одинаковая закономерность, т.е. отклонение от прямолинейности начинается с той же концентрации хлорофилла.

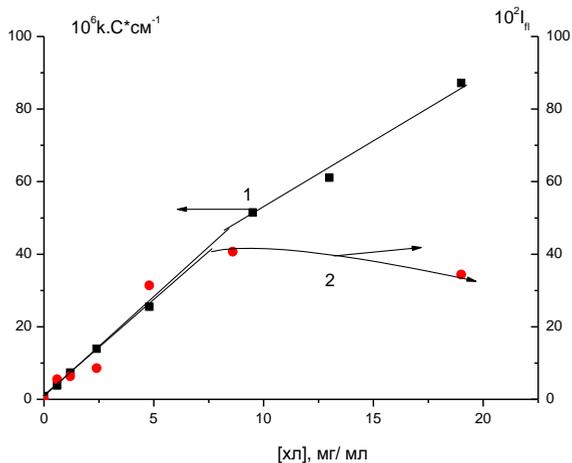


Рис. 11. Значения удельной электропроводности (1) и интенсивности флуоресценции (2) в различных концентрациях хлорофилла в этанольном растворе.

Таким образом, на основании полученных данных установлено, что образование ассоциатов хлорофилла зависит от полярности растворителя. В неполярных растворителях зеленые пигменты существуют обычно в ассоциативной форме. Показано, что при образовании ассоциатов меняются электропроводность и вязкость растворов хлорофилла. Наблюдаются также тушение сигнала флуоресценции хлорофилла и смещение максимума в длинноволновую область. Установлено, что изменения электропроводности, вязкости и тушение флуоресценции начинаются при одинаковой концентрации хлорофилла в растворе.

ԱՍՈՑԻԱՏՆԵՐԻ ԱՌԱՋԱՅՈՒՄԸ ՔԼՈՐՈՖԻԼԻ ԱՅՏԵՏՈՆԱՅԻՆ ԵՎ ԷԹԱՆՈՒԱՅԻՆ ԼՈՒԾՈՒՅԹՆԵՐՈՒՄ

**Ս. Ն. ԱՓՈՅԱՆ, Ա. Մ. ՆՈՎՆԱՆՆԻՍՅԱՆ,
Ս. Մ. ՎԱՐԴԱՊԵՏՅԱՆ և Գ. Ֆ. ՄՎԻՏՅԱՆ**

Աշխատանքում ուսումնասիրված է սպանախից էքստրակցված քլորոֆիլի և նրա ածանցյալների տեսակարար էլեկտրահաղորդականության և հարաբերական մածուցիկության կախվածությունը: Ցույց է տրված, որ դրանք քլորոֆիլի բարձր կոնցենտրացիայի դեպքում շեղվում են ուղղաձուլությունից, որը, ըստ քլորոֆիլի ֆլուորեսցենցիայի 2D և 3D պրոեկցիաների, պայմանավորված է ասոցիատների առաջացումով: Լուծույթներում էլեկտրահաղորդականության և մածուցիկության փոփոխությունը սկսվում է քլորոֆիլի այն կոնցենտրացիայից, որից սկսած նկատվում է ֆլուորեսցենցիայի մարումը: Կախված լուծիչի բնույթից, ասոցիատները առաջանում են քլորոֆիլի տարբեր կոնցենտրացիաներում:

FORMATION OF CHLOROPHYLL ASSOCIATES IN ACETONE AND ETHANOL SOLUTIONS

S. H. APOYAN, A. M. HOVHANNISYAN,
S. M. VARDAPETYAN and G. F. MKRTCHYAN

Yerevan State University
1, A. Manoukyan Str., Yerevan, 0025, Armenia
E-mail: svapoyan@ysu.am

The changes in the specific electrical conductivity and the relative viscosity of chlorophyll and its derivatives were studied. It was shown that the electrical conductivity and viscosity depends on the concentration of chlorophyll. At a high concentration of chlorophyll, a deviation from straightness is observed, which is due to the formation of associations. 2D and 3D projections of fluorescence of chlorophyll prove the presence of associations. The changes in electrical conductivity, viscosity and fluorescence quenching start at the same concentration of chlorophyll in a solution. Depending on the nature of the solvent, associations are formed at different concentrations of chlorophyll.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Андрианова Ю.Е., Тарчевский И.А. Хлорофилл и продуктивность растений. М., Наука, 2000, с. 135.
- [2] Vatsala T.M., Rekha R. // Indian Journal of Science and Technology, 2013, v. 6, Issue 2, p. 97.
- [3] Naimushina L.V., Karaseva A.Yu., Chesnokov N.B. // Journal of Siberian Federal University, Chemistry, 2012, v. 3, p. 281.
- [4] Sandiningtyas R.D., Suendo V. / Proceedings of the Third International Conference on Mathematics and Natural Sciences, ICMNS, 2010, p. 859.
- [5] Ching-Y.H., Chao Pi-Yu, Shene-Pin Hu, Chi-Ming Yang // Food and Nutrition Sciences, 2013, v. 4, p. 1.
- [6] Dikio E.D. Isabirye D.A. // Chem. Soc. Ethio, 2008, v. 22(2), p.301.
- [7] Hartmut K. // Current Protocols in Food Analytical Chemistry, 2001, F4.3.1-F4.3.8.
- [8] Антонов В.И., Ягодин В.И. // Химия растительного сырья, 2006, №2, с. 47.
- [9] Pandey J.K., Srivastava P., Yadav R.S. // International Journal of Spectroscopy, 2012, v. 27, Issue 4, p. 206.
- [10] Wang H., Hengsternann T., Loquay K.D., Reuter R., Willkomm R. // EARSel Advances in remote sensing, 1995, v. 3, №3, p.112.