

УДК 628.979, 621.273

**Марія Котик**

Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя, Україна

### **КІНЕТИКА ФЛЮОРИСЦЕНЦІЇ МОЛЕКУЛ ХЛОРОФІЛУ**

Параметри флюоресценції є показником стану та ефективності протікання процесів фотосинтезу, оскільки зменшення ефективності використання світлової енергії у фотосинтезі веде до збільшення інтенсивності флюоресценції.

Ключові слова: кінетика флюоресценції, хлорофіл, імпульс світла, флюориметр

**Maria Kotyk**

### **KINETICS OF FLUORESCENCE OF CHLOROPHYLL MOLECULES**

Since the reduction of the efficiency of the use of light energy in photosynthesis leads to an increase in the fluorescence intensity.

Keywords: fluorescence kinetics, chlorophyll, pulse of light, fluorometer

Кінетика флюоресценції вперше була досліджена в 1931 році Kautsky і Hirsch [1]. Авторами було показано, що освітлення попередньо адаптованих в темноті рослин синім світлом призводить до різкого росту червоної флюорисценції хлорофілу в перші секунди від моменту його включення, після чого інтенсивність флюорисценції поступово знижується до деякого стаціонарного рівня.

Кінетика загасання флюоресценції рослин після короткого (близько 1 с) імпульсу світла, включає в себе короточасні ( $\tau=10^{-9}$ - $10^{-7}$ с швидка флюоресценція) і довготривалі компоненти ( $\tau=10^{-6}$ - $10$  с, уповільнена флюоресценція) [2].

Час темного інтервалу між освітленням і вимірюванням післясвітіння становить приблизно 1 сек. При таких умовах реєструють кінетику загасання довготривалих компонент післясвітіння з  $\tau > 100$  мс.

При включенні світла спостерігається спочатку швидке, а потім повільне наростання інтенсивності післясвітіння до максимального значення. Далі відбувається зниження інтенсивності післясвітіння до стаціонарного рівня.

Вимірювання швидкості зростання, проведене німецьким фізіологом Ю. Саксом (1872), дозволило встановити певні закономірності [3]. У початковий період темпи зростання, як правило, низькі. Потім зростання посилюється і йде з великою швидкістю (період великого зростання), а потім знову сповільнюється. В результаті збільшення розміру рослини може бути зображене у вигляді S-подібної кривої. Аналізуючи отриману криву, можна її розділити на три ділянки:

- 1) фаза, коли зростання змінюється експоненціально (логарифмічно);
- 2) фаза, коли зростання змінюється лінійно;
- 3) фаза гальмування росту.

При цьому ми бачимо, що спочатку швидкість росту зростає, потім деякий час зберігається на постійному рівні, а потім падає. Падіння для однорічних рослин зазвичай збігається з переходом до репродукції. Відносні прирости падають значно швидше. Це пов'язано з тим, що на ранніх етапах розвитку рослина складається майже з одного листа. Вироблена ними суха речовина йде на створення все нових і нових одиниць листової поверхні. В результаті загальна кількість сухої речовини зростає в геометричній прогресії. Однак потім суха речовина починає все більше використовуватися на утворення речовин, які беруть участі у фотосинтезі. Листя складають все меншу частину рослини. У зв'язку з цим, незважаючи на збільшення

абсолютної швидкості приросту, його значення по відношенню до загальної маси рослини поступово падає.

Енергія поглинених квантів світла, що не була використаною для фотосинтезу [4,5] переходить або в тепло, або у флуоресценцію хлорофілу. Параметри флуоресценції є показником стану та ефективності протікання процесів фотосинтезу, оскільки зменшення ефективності використання світлової енергії у фотосинтезі веде до збільшення інтенсивності флуоресценції. Зазвичай під час флуоресценції спостерігається зсув випромінювання люмінесценції відносно поглинання у бік більших довжин хвиль

Для збудження флуоресценції хлорофілу [6], спектр якої лежить в області 660-800 нм, використовують випромінювання з довжиною хвилі 480 нм або 532 нм. В сприятливих умовах не більше 3% енергії електронного збудження хлорофілу переходить в енергію світла флуоресценції у вигляді так званої фонові флуоресценції, якщо її значення мале, то це свідчить про активне використання клітинами енергії поглиненого світла. Цей рівень флуоресценції відповідає умовам, коли усі реакційні центри фотосистеми перебувають у так званому "відкритому" робочому стані, при якому вони ненасичені, тоді поглинена світлова енергія вже не використовується на фотосинтез і флуоресценція хлорофілу зростає, досягаючи максимального значення. Насичення реакційних центрів може відбуватися при збільшенні інтенсивності світлового потоку, тому на інтенсивність спектральних ліній флуоресценції хлорофілу впливають не лише умови в яких перебуває рослина, а й інтенсивність та тривалість світлового потоку збудження.

Для вимірювання флуоресценції використовують флуориметри. Принцип роботи флуориметра заснований на вимірюванні величини люмінесценції - інтенсивності випромінювання деяких речовин внаслідок збудження під дією світла певної довжини хвилі, причому довжина хвилі збуджуючого світла завжди менша від довжини хвилі світла випромінюваного. Завдяки роботі фотодетектора відбувається пропорційне перетворення світлового сигналу в електричний.

У загальному випадку інтенсивність флуоресценції пропорційна концентрації флуоресціюючої речовини. Однак дане твердження справедливе лише для досить малих концентрацій. При підвищенні концентрації флуоресціюючої речовини спостерігається ряд ефектів, завдяки яким залежність інтенсивності флуоресценції від концентрації відчуває значні відхилення від лінійності. В аналітичних процедурах з використанням флуориметрії, також як в фотометрії, застосовують калібрувальні графіки, побудовані на основі флуориметрії еталонних розчинів.

### **Література**

1. Фотосинтез в хлорофилл-дефицитных тканях растений: флуоресцентные и фотоакустические исследования: монография / В.С.Лысенко: Южный федеральный университет. – Ростов-на-Дону: Издательство Южного федерального университета, 2014. – 138 с.

2. [http://biophys.msu.ru/general\\_courses/laboratory\\_classes/material/mprac/8new002.pdf](http://biophys.msu.ru/general_courses/laboratory_classes/material/mprac/8new002.pdf)

3. <http://fizrast.ru/razvitie/rost/kinetika.html>

4. Рубин А.Б. Биофизика фотосинтеза и методы экологического мониторинга // Технология живых систем. – 2005, Т.2. - С. 47–68.

5. Лакович Дж Основы флуоресцентной спектроскопии. Пер. с англ. – М: Мир, 1986. – 496 с.

6. М. Тарновський, Я. Янковський Оптичні методи аналізу фізіологічного стану рослин для задач сільського господарства та екологічного моніторингу. – 2012, С.127-