

EWA UNGER

POGLĄDY J. FRANCKA NA PROCES FOTOCHEMICZNY PODCZAS FOTOSYNTETY

Jest rzeczą znaną od czasów pierwszych badań nad fotosyntezą, że warunkiem przyswojenia dwutlenku węgla przez rośliny jest obecność światła i chlorofilu, ale choć minęło już wiele dziesiątków lat od stwierdzenia tego podstawowego faktu, do dziś nie ustalono jeszcze ostatecznie, jakimi drogami idzie przetworzenie energii promienistej na energię chemiczną. Wiemy już, że kluczową reakcją jest fotoliza wody, lecz ciągle szukamy wyjaśnienia mechanizmu tego rozszczepienia. W powszechnie dziś przyjętym schemacie Calvina, szczegółowo przedstawiającym przemiany biochemiczne przyswojenia dwutlenku węgla przez roślinę, problem przemiany energetycznej został potraktowany marginesowo. Autor omawianego schematu ograniczył się do stwierdzenia, że działa tu, w postaci chlorofilu, «ogniwo słoneczne», jednak tłumaczenie to (Calvin, 1956) z wielu względów jest niezadowolające. W niniejszym opracowaniu omawiana jest hipoteza Jamesa Francka, profesora Uniwersytetu w Chicago, tłumacząca problem pierwotnego procesu fotochemicznego, a więc mechanizmu przetwarzania energii promienistej na chemiczną, w oparciu o badania fluorescencji chlorofilu.

Przed przejściem do istoty omawianej hipotezy trzeba jednak najpierw przypomnieć kilka pojęć i zależności potrzebnych w dalszych rozważaniach, zaczynając od samego zjawiska fluorescencji.

Niektóre związki mają zdolność emitowania części zaabsorbowanego światła w postaci widzialnego promieniowania fluorescencyjnego. Zgodnie z prawem Stockesa długości fali widma światła wypromieniowanego są dłuższe od długości fali widma światła zaabsorbowanego, a więc uboższe w energię.

Zjawisko fluorescencji barwników liścia — ciemnoczerwona barwa ich roztworów w świetle odbitym — znane jest od dawna. Okazuje się, że fluorescencja występuje nie tylko *in vitro*, w roztworach, ale również w żywych tkankach, choć w tym wypadku jest znacznie mniej intensywna. Badania nad tym właśnie zjawiskiem znacznie posunęły naprzód naszą wiedzę o sposobie przyswajania energii świetlnej przez roślinę. Ponieważ w normalnie asymilującej tkance na fluorescencję zużywane jest jedynie 2,5—3,0% światła absorbowanego (French, 1960) (co pod względem energetycznym jest ilością tak małą, że najlepiej ją zaniedbać, by nie

gmatwać ogólnego obrazu przemian) przez długie lata nie zwracano na nią uwagi. Jednak okazało się, że takie postępowanie nie było słuszne. Dziś dysponujemy już długim szeregiem prac zajmujących się fluorescencją barwników ciałek zieleni.

Zaobserwowano, że pewne anomalie w intensywności fotosyntezy, występujące w tzw. okresie indukcji, bezpośrednio po rozpoczęciu oświetlania rośliny, znajdują odbicie w anomaliach intensywności fluorescencji (tzw. efekt Kautskiego). Można więc przypuszczać, że oba te procesy są ze sobą związane i z wyników badań nad jednym wyciągać wnioski co do drugiego. Z drugiej strony pomiary intensywności fluorescencji stały się podstawą dzisiejszej wiedzy o przekazywaniu energii pomiędzy cząsteczkami barwników liścia i to zarówno między poszczególnymi cząsteczkami jednego i tego samego związku, np. chlorofilu *a*, jak i między drobinami różnych barwników, np. chlorofilów *b* i *a*.

Przekazywanie energii pomiędzy poszczególnymi drobinami, o którym właśnie była mowa, różni się oczywiście od emisji światła w procesie fluorescencji i nosi nazwę sensybilizowanej fluorescencji. Jako synonimów (dla barwników chloroplastów) można też dla tego procesu użyć określeń: indukcja rezonansowa, przekazywanie indukcyjne lub przekazywanie rezonansowe.

Teoretycznie przekazywanie energii pomiędzy poszczególnymi cząsteczkami zachodzi zawsze w kierunku tych związków, których długości fali widma absorpcyjnego są dłuższe, tzn. tych, które absorbują mniejsze kwanty świetlne. Trzeba bowiem pamiętać, że energia, jaką niesie jeden kwant jest określona wzorem $E = hv$, a według falowo-korpuskularnej teorii promieniowania elektromagnetycznego długość fali promieniowania jest odwrotnie proporcjonalna do jej częstotliwości ($\lambda = c/v$). Czyli im dłuższa fala świetlna, tym mniejsza częstotliwość drgań i tym mniejsza energia kwantu. Wynika stąd, że fluorescencja, normalna czy też sensybilizowana, zawsze powoduje pewną utratę energii, gdyż emitowane lub przekazywane jest promieniowanie o dłuższej fali, a zatem mniejszych kwantach.

Praktycznie okazuje się, że w paśmie promieniowania czerwonego, w którym obserwujemy maksima absorpcji chlorofilów, maksimum najdalej przesunięte w kierunku fal długich ma chlorofil *a*; znajduje się ono pomiędzy 670 a 680 $m\mu$.

Dokładnej liczby podać nie można, ponieważ położenie maksimum absorpcji zmienia się nie tylko z wiekiem rośliny i w zależności od gatunku, ale także w trakcie kilkugodzinnego naświetlania świeżo utworzonego z protochlorofilu barwnika (Krasnowskij i Kossobudskaja, 1952). Oczywiście równolegle ulegają przesunięciu długości fali jego widma fluorescencyjnego. Dla chlorofilu *b* maksimum absorpcji znajduje się pomiędzy 645 a 650 $m\mu$, a dla karotenoidów przypada na ok. 480 $m\mu$.

Liczne badania stwierdziły, że chlorofil *a* jest rzeczywiście zarówno u roślin wyższych, jak i u glonów związkiem, który «zbiera» energię od innych pochłaniających światło barwników i tylko on bierze udział w ostatecznym przekształceniu energii promienistej na chemiczną (Frank, 1960). Dowodem na to, że właśnie tak się sytuacja przedstawia może być to, że natężenie fluorescencji chlorofilu *a* podczas normalnej fotosyntezy jest mniejsze niż natężenie na takim samym świetle po zahamowaniu procesu asymilacji. Widocznie więc energia świetlna jest w czasie

fotosyntezy zużywana inaczej niż na fluorescencję. Do problemu tego wrócimy jeszcze pod koniec tego artykułu. Fluorescencji chlorofilu *b* w żywych tkankach nie stwierdzono. Daje się to łatwo wytłumaczyć, jeżeli przyjąć, że pochłonięta przez ten barwnik energia zostaje natychmiast przekazana w procesie sensybilizowanej fluorescencji chlorofilowi *a*, a nie zostaje wyemitowana poza układ w postaci normalnej, widzialnej fluorescencji. Sensybilizowana fluorescencja nie daje bowiem efektów świetlnych mierzalnych poza układem.

Zjawisko sensybilizowanej fluorescencji jako sposób przekazywania energii znane jest od lat i to dla wszystkich trzech stanów skupienia materii. Poznano też warunki, jakie muszą zaistnieć, aby tego rodzaju transport energii mógł się odbywać. Jednym z warunków jest oczywiście to, by długości fal pasma emitowanego przez te drobin, które energię oddają, nakładały się na długości fal pasma absorpcyjnego tych drobin, które energię przyjmują. Inaczej nie mogłoby być mowy o możliwości przekazania energii. Jasnym staje się też fakt, że «zbiornikiem» energii jest zawsze ten związek, którego widmo absorpcyjne charakteryzują największe długości fal, gdyż związki o widmie o krótszych długościach fal przekazują pierwszemu swoją energię. Drugim warunkiem jest odpowiednio bliskie ułożenie drobin biorących udział w sensybilizowanej fluorescencji. Dla uzyskania dobrej wydajności procesu odległości te nie powinny przekraczać 100 Å.

Obydwa te warunki są spełnione dla barwników chloroplastów i spotykamy się tu z przekazywaniem energii zarówno między wieloma cząstkami chlorofilu *a*, jak też pomiędzy chlorofilem *b* i chlorofilem *a*, karotenoidami i chlorofilem *a* i fikobilinami i chlorofilem *a*. Pierwsze dwa z wymienionych procesów, tzn. przekazywanie energii pomiędzy drobinami chlorofilu *a* i pomiędzy chlorofilem *b* i *a* zachodzą z blisko 100% wydajnością, co jest tym ważniejsze, że te dwa barwniki pochłaniają razem 83—91% całego, padającego na roślinę, promieniowania (Loomis, 1949), a sam chlorofil *b* do 42% (Duysens, 1952). Gorsza wydajność sensybilizowanej fluorescencji powodowałaby więc duże straty energetyczne. Proces trzeci, przekazywanie energii przez karotenoidy, zachodzi już tylko z 40—50% wydajnością (Duysens, 1952), tzn. przeszło połowa pochłoniętej przez karotenoidy energii świetlnej jest dla procesu fotosyntezy stracona. Ponieważ jednak ogólna ilość promieniowania pochłoniętego przez nie jest procentowo niewielka, także i w ogólnym bilansie energetycznym straty nie są duże.

Jeżeli chodzi o dowody na to, że energia jest rzeczywiście, jak o tym ciągle mowa, przekazywana przez długi szereg drobin, to można się tu powołać na wyniki doświadczeń Arnolda i Meek (1956). Badali oni stopień spolaryzowania światła fluorescencyjnego roślin (glonów), naświetlanych światłem spolaryzowanym i stwierdzili, że jedynie niewielki procent światła fluorescencyjnego jest spolaryzowany. Fakt ten da się wytłumaczyć zakładając, że barwniki liścia działają rzeczywiście w jednostkach składających się z setek, a może nawet tysięcy drobin. Według wszelkiego prawdopodobieństwa cząsteczki barwnika znajdują się w stanie stałym, a nie w roztworze, a zatem zmiana położenia w ciągu bardzo krótkiego odcinka czasu, jaki upływa pomiędzy pobudzeniem drobin a wyemitowa-

niem światła fluorescencyjnego (właściwego lub sensybilizowanego), nie jest możliwa. Przekazywanie pobudzenia przez długi szereg tak ułożonych drobin oczywiście musi spowodować zdepolaryzowanie światła, ponieważ cząsteczki barwników ułożone są wobec siebie w sposób przypadkowy.

Na marginesie tego, co powiedziano dotychczas, warto może jeszcze omówić jedną, mało braną na razie pod uwagę i czysto teoretyczną, możliwość powstawania energii chemicznej za pośrednictwem chlorofilu. Chodzi mianowicie nie o przekazywanie energii od jednej drobin do drugiej, jak to ma miejsce w sensybilizowanej fluorescencji, ale o przekazywanie jej w obrębie jednej, wielkiej, złożonej cząsteczki, pomiędzy jej częściami składowymi. W takiej drobinie może, pod wpływem światła, nastąpić tzw. migracja pobudzona, czyli przemieszczanie elektronów z jednego składnika cząsteczki do drugiego. Przykładem omawianego zjawiska może być fikocjanina (Bannister, 1954). Stwierdzono, że część białkowa tego chromoproteidu pochłania promieniowanie ultrafioletowe, natomiast grupa prostetyczna, fikobilina, emituje pod wpływem naświetlania takimi promieniami widoczne gołym okiem światło fluorescencyjne. Teoretycznie, wg. Frencha (1960), możliwe byłoby zachodzenie podobnego zjawiska w chloroplastach: absorbowanie światła przez chlorofil i przekazywanie, w procesie pobudzonej migracji, części pobranej energii cząstkom związku blisko położonego i w jakiś sposób z chlorofilem połączonego. Na przykład odbiorcą elektronów mogłoby być połączone z chlorofilem białko wchodzące równocześnie w skład enzymu biorącego udział w fotolizie wody.

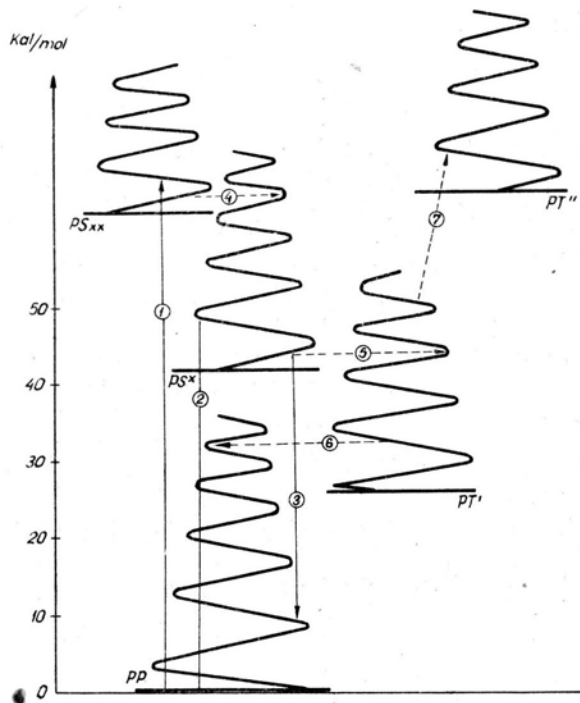
Nim przejdziemy do omawiania reakcji, dzięki którym drobin chlorofilu *a*, w których skupiła się pewna ilość energii, przekształcają ją w energię chemiczną, trzeba sobie jeszcze zdać sprawę z dwóch rzeczy. Po pierwsze, na czym właściwie polega to pochłonięcie energii, o którym tyle już było mowy, a po drugie, jakie warunki energetyczne muszą być spełnione, aby mógł zająć proces fotolizy wody.

Wiadomo, że energia świetlna jest emitowana w sposób nieciągły w formie bardzo drobnych porcji zwanych kwantami świetlnymi (fotonami). Wielkość kwantu zależna jest od długości fali świetlnej. Pochłonięcie kwantu powoduje pobudzenie pochłaniającej cząsteczki — podniesienie jej na wyższy poziom energetyczny. Ściśle określone prawa mówią o tym, jakie to mogą być poziomy, ale fizykochemiczne rozważania objaśniające omawiane zjawisko nie są dla zrozumienia go niezbędne i dlatego zostaną pominięte. Wystarczy wiedzieć, że każdy pobudzony atom, względnie cząsteczka, może znaleźć się na jednym z kilku, zawsze ściśle określonych, poziomów energetycznych. Wysokość takiego poziomu zależy od wielkości pochłoniętego, względnie wyemitowanego kwantu. Energię określonego stanu pobudzenia można wyrazić w różnych jednostkach — w dalszych rozważaniach jej miarą będą kalorie.

Na schemacie nr 1 podane są poziomy energetyczne, na których może się znaleźć cząsteczka chlorofilu. Oprócz poziomu podstawowego, którym jest nie pobudzony poziom singletowy, mamy tu cztery poziomy pobudzone, dwa singletowe i dwa tripletowe. Niższy poziom tripletowy nosi nazwę poziomu metastabilnego, ponieważ okres trwania cząsteczki na tym poziomie jest stosunkowo długi, około 10^6 razy dłuższy niż na wszystkich innych poziomach pobudzenia. Energia zgromadzona w takiej pobudzonej cząsteczce zostaje w drobnym ułamku sekundy przekazana bądź to poza układ, mamy wtedy do czynienia z fluorescencją, bądź też wewnątrz cząsteczki, wtedy ma miejsce nieradiacyjne przejście na niższy poziom

energetyczny. Na schemacie 1 te przejścia, które są związane z pochłanianiem względnie z emitowaniem światła, są zaznaczone strzałkami ciągłymi, a te, które nie dają efektów świetlnych — przerywanymi.

Na schemacie 1 widać, że po pochłonięciu kwantu światła czerwonego drobina chlorofilu znajduje się na poziomie pierwszego pobudzonego singletu. Energia

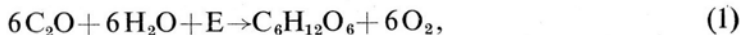


Schemat 1

Poziomy energetyczne, na jakich może się znaleźć drobina chlorofilu. PP — poziom podstawowy, PS^x — pierwszy poziom singletowy, PS^{xx} — drugi poziom singletowy, PT' — pierwszy poziom tripletowy, PT'' — drugi poziom tripletowy. Strzałki ciągłe — przejścia związane z promieniowaniem, strzałki przerywane — przejścia nieradiacyjne. 1. Absorpcja kwantu światła niebieskiego lub fioletowego. 2. Absorpcja kwantu światła czerwonego. 3. Fluorescencja. 4, 5, i 6. Nieradiacyjne przejścia na niższy poziom energetyczny. 7. Przejście na PT'' na skutek kumulacji energii PS^x i PT' . (Wg Jabłońskiego, zmodyfikowane)

tego poziomu wynosi ok. 41 Kal/mol. Po nieradiacyjnym przejściu 5 (na metastabilny poziom tripletowy) pozostaje już tylko 26 Kal/mol. W dalszych rozważaniach będzie mowa głównie o tych dwóch poziomach.

Rozważanie energetycznych wymagań fotosyntezy należy rozpocząć od przypomnienia najbardziej podstawowego i schematycznego równania

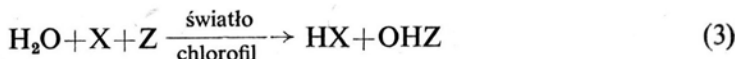


z którego wynika, że na każdy mol przyswojonego dwutlenku węgla wydzielą się mol tlenu. Wiadomo, że tlen ten pochodzi z wody, z której zostaje wydzielony

w wyniku szeregu przejść, zaczynających się od fotolizy wody. Do niedawna proces fotolizy zapisywano następująco:



Dziś, w wyniku nowszych badań uwzględnia się związki przyłączające produkty fotolizy i pisze się:



Dalsze przemiany są już procesami enzymatycznymi i prowadzą do wydzielenia z utworzonych grup wodorotlenowych wolnego tlenu. Nie jest dotychczas sprawą wyjaśnioną, czy tworzą się przejściowo organiczne nadtlenki, czy też nie. W każdym razie przejścia enzymatyczne można ująć w sumaryczne równanie 4



Z równań 1, 3 i 4 widać, że na wyprodukowanie jednego mola tlenu, który powstaje przy przyswojeniu 1 mola CO_2 potrzeba rozkładu czterech moli wody, jednak tylko z dwóch z nich wydziela się faktycznie tlen, a pozostałe dwa powstają z powrotem jako produkt reakcji, opisanych równaniem 4. Z pomiarów termodynamicznych wiadomo, że redukcja 1 mola dwutlenku węgla wymaga 120 Kal. Wobec tego, gdyby przyjąć 100% wydajności, to na wyprodukowanie 1 mola tlenu potrzeba byłoby $\frac{120}{4} = 2,9$ moli kwantów światła czerwonego, zdolnego do podniesienia chlorofilu na pierwszy pobudzony poziom singletowy o energii ok. 41 Kal/mol. Na każdy mol wody rozłożony w procesie fotolizy przypada zaś $\frac{120}{4} = 30$ Kal/mol., okazuje się jednak, że w ten sposób liczyć nie można.

Fotochemicy uważają, że jest niemożliwe, aby cała energia zawarta w molu pobudzonych drobin chlorofilu (w ilości 41 Kal) została zużyta na przemianę chemiczną. Część energii zostaje rozproszona przez barwniki liścia, część zużyta na rozdzielenie produktów reakcji celem zapobieżenia natychmiastowemu pre-reagowaniu ze sobą w kierunku odwrotnym; pewnej energii potrzeba też na aktywację produktów pośrednich. Franck (1953) oblicza wszystkie te straty na ok. 7 Kal/mol. Poza tym należy pamiętać, że wymagania energetyczne procesu fotosyntezy nie ograniczają się jedynie do fotolizy wody. Oprócz atomów wodoru niezbędnych do redukcji przyswojonego dwutlenku węgla potrzeba jeszcze ATP, a energia potrzebna do wytworzenia wysokoenergetycznych wiązań tego związku płynie, w ostatecznym rachunku, znowu z pierwotnego pobudzenia cząsteczki chlorofilu przez kwanty świetlne. Z obliczeń termodynamicznych wynika, że na procesy związane z powstawaniem jednej drobin ATP potrzeba ok. 2 kwantów światła czerwonego. Wiadomo wreszcie, że zgodnie z prawem Einsteina przeprowadzenie jednostkowej reakcji chemicznej wymaga jednego kwantu. Ponieważ

przyswojeniu jednej drobinę dwutlenku węgla musi towarzyszyć rozkład czterech cząsteczek wody, potrzeba co najmniej czterech kwantów na sam proces fotolizy wody.

W sumie zatem teoretyczna wydajność 2,9 kwantu/ O_2 jest niemożliwa. Minimalne zapotrzebowanie kwantowe wydaje się wynosić 6 $h\nu/O_2$, tzn. 4 kwanty na fotolizę, a dwa na pozostałe procesy. Dane doświadczalne dużej grupy badaczy potwierdzają te teoretyczne obliczenia podając 6—10 $h\nu/O_2$. Jedynie wyniki Warburga i jego szkoły odbiegają znacznie od powyższych wartości, osiągając wyniki zbliżone do teoretycznego zapotrzebowania 2,9 kwantu/ O_2 . Jednakże większość pozostałych uczonych jest zdania, że pomiary przeprowadzane przez tę szkołę w bardzo specyficznych warunkach nie odzwierciedlają wymagań energetycznych procesów zachodzących w czasie normalnej fotosyntezy, a wyniki przez nich osiągnięte nie muszą w takich rozważaniach jak niniejsze być brane pod uwagę. Wydaje się, że rację ma chyba Kok (1960) twierdząc, że należy mówić raczej o zapotrzebowaniu 8—10 $h\nu/O_2$, niż 6—8 $h\nu/O_2$. Wydajność kwantowa fotosyntezy, czyli liczba będąca odwrotnością zapotrzebowania kwantowego, wynosi więc około $1/8$.

Rozpatrzmy jeszcze wydajność fotosyntezy od strony fluorescencji. Jeżeli przekroczyć pewną długość fali światła padającego, czyli zmniejszyć wielkość kwantów poza określoną granicę, to zarówno wydajność kwantowa fotosyntezy, jak i natężenie fluorescencji gwałtownie opadają. Świadczy to o tym, że za obydwie te procesy odpowiedzialny jest jeden i ten sam poziom energetyczny. Wiadomo, że fluorescencja zachodzi jedynie wtedy, gdy drobina chlorofilu znajdzie się na pierwszym pobudzonym poziomie singletowym. Jeżeli wyłącznie ten sam poziom odpowiedzialny jest za reakcję fotochemiczną, to po uniemożliwieniu fotosyntezy (np. przez umieszczenie rośliny w powietrzu pozbawionym CO_2) intensywność fluorescencji powinna wielokrotnie wzrosnąć. W takim wypadku bowiem cała energia powinna być zużywana jedynie na fluorescencję. Tymczasem okazuje się, że wzrost intensywności fluorescencji po zablokowaniu fotosyntezy rzeczywiście następuje, ale jest najwyżej dwukrotny, a i wtedy fluorescencja wynosi zaledwie ok. $1/20$ światła pochłanianego. Wynika z tego, że oprócz reakcji fotochemicznej i emisji światła musi istnieć jeszcze trzecia, znacznie efektywniejsza od fluorescencji, możliwość wykorzystania energii pierwszego pobudzonego stanu singletowego. Okazuje się, że rzeczywiście możliwość taka istnieje, a jest nią tworzenie się cząsteczek pobudzonych na pierwszym poziomie tripletowym. Reakcją, o której mowa, jest więc nieradiatywne przejście, oznaczone na schemacie 1 liczbą 5. Jeżeli wydajność fluorescencji po zablokowaniu fotosyntezy wzrasta dwukrotnie, to również liczba cząsteczek znajdujących się na poziomie metastabilnego tripletu wzrośnie tyle samo razy, czyli, przy normalnie przebiegającej asymilacji CO_2 , połowa drobin (w przybliżeniu) znajdujących się na poziomie pierwszego pobudzonego singletu powoduje bezpośrednio reakcję fotochemiczną, a druga połowa przechodzi w stan metastabilnego tripletu. Jeżeli przyjąć, że energia tych drugich cząsteczek także zostaje zużyta w procesie fotosyntezy, to na każdy kwant zaabsorbowanego światła przy-

pada użyteczna energia równa średniej energii pobudzenia obu omawianych poziomów, czyli $\frac{41+26}{2} = 33,5$ Kal/mol kwantów. Po odliczeniu jeszcze kilku pro-

cent na straty energetyczne spowodowane fluorescencją pozostaje ok. 30 Kal/mol kwantów, czyli tyle, ile wg poprzednich obliczeń potrzeba na rozkład drobiny wody. Jednak należy pamiętać, że obliczenie to odnosiło się do niemożliwej do zrealizowania wydajności, wynoszącej 100%. Jeżeli wobec tego energia jednego kwantu nie może wystarczyć do fotolizy jednej drobiny wody, to można przyjąć, że potrzeba na to dwóch kwantów — i w tym momencie nareszcie przechodzimy do właściwej teorii Francka, opierającej się na założeniu, że na fotolizę jednej drobiny wody potrzeba dwóch kwantów.

Teoretycznym poparciem jego hipotezy jest m. in. fakt, że większość badaczy doświadczalnie określiła wydajność kwantową procesu fotosyntezy na $\frac{1}{8}$, czyli, że rzeczywiście na każdą z czterech rozłożonych w jednostkowym procesie przyswojenia drobiny CO_2 cząsteczek wody przypadają średnio 2 kwanty. Sposób zużycia dwóch kwantów na fotolizę jednej cząsteczki może być różny. W grę wchodzi przede wszystkim dwie zasadnicze drogi — fizyczna i chemiczna.

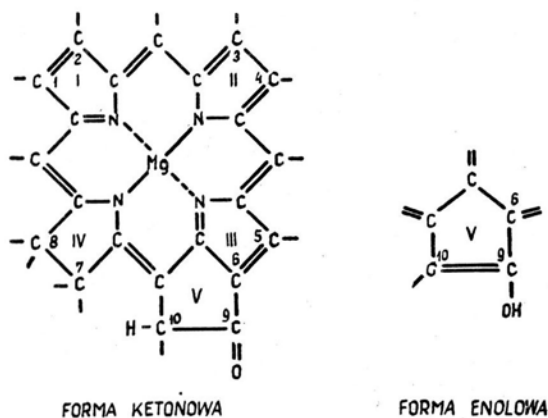
Drogą fizyczną jest podniesienie pobudzonej już cząsteczki na jeszcze wyższy poziom energetyczny. Sposobem dostarczania energii może oczywiście znowu być sensybilizowana fluorescencja. Cząsteczką, której poziom energetyczny ulega podwyższeniu jest, wg Francka, cząsteczka znajdująca się na pierwszym pobudzonym poziomie tripletowym. Z dwu powodów te cząsteczki szczególnie dobrze nadają się do przyjmowania dodatkowej porcji energii. Po pierwsze trwałość ich, jak o tym już była mowa, jest znacznie większa od trwałości cząsteczek znajdujących się na innym pobudzonym poziomie energetycznym, a po drugie widmo absorpcyjne tych cząsteczek jest przesunięte w kierunku fal długich, spełnia więc warunki akceptora energii od cząstki znajdującej się na poziomie pierwszego pobudzonego singletu, która jest donatorem energii, a której widmo absorpcyjne leży w pasmie nieco krótszych fal. W efekcie otrzymujemy drobinę znajdującą się na drugim pobudzonym poziomie tripletowym. Na schemacie 1 przejścia, o których mowa, oznaczone są cyframi 5 i 7. Przy pomocy odpowiednich pomiarów stwierdzono, że warunkiem zaistnienia takiego skumulowania energii jest bliskie siebie usytuowanie ok. 100 eksponowanych cząsteczek chlorofilu. O tym, co Franck nazywa eksponowaną cząsteczką chlorofilu, mowa będzie niżej.

O chemicznym sposobie zużycia dwóch kwantów na jeden proces fotochemiczny można mówić wówczas, kiedy daną reakcję da się rozdzielić na dwie reakcje cząstkowe, a do wykonania każdej z nich powinna wystarczyć energia jednego kwantu. Według Francka pierwszą z tych reakcji mogłoby być pewne przekształcenie keto-enolowe, wymagające jedynie ok. 20 Kal/mol i niewielkiej energii aktywacji; a więc 26 Kal/mol, jakimi dysponuje metastabilny triplet, wystarczyłoby na przeprowadzenie tego przekształcenia. Energia pierwszego pobudzonego singletu zostałaby wtedy, w drugiej reakcji cząstkowej, zużyta już tylko na sam proces fotolizy i przeniesienie jej produktów, cząsteczek H i OH, na odpowiednie akcep-

tory, pokrywając zapotrzebowanie energetyczne tej reakcji z nadwyżką. Przy tego rodzaju interpretacji sposobu zużycia dwóch kwantów na jeden proces fotolizy drobin wody także pozostaje w mocy zastrzeżenie, że czynnymi są jedynie eksponowane drobin chlorofilu.

Dla wytłumaczenia, na czym polega nadzwyczajna rola niektórych drobin chlorofilu *a*, trzeba się bodaj pobieżnie zająć budową chloroplastów. Okazuje się, że cząsteczki chlorofilu są w nich ułożone najprawdopodobniej w monomolekularnej warstwie pomiędzy dwoma warstwami lipoproteidowymi, z których jedna jest bogatsza w lipidy od drugiej. Jedynie mniej więcej jedna na trzysta drobin chlorofilu *a* może się spod tego lipoproteidowego płaszczka wyzwolić i wejść w bezpośredni kontakt z wodą i te właśnie stosunkowo nieliczne cząstki są fotochemicznie aktywne i noszą nazwę cząstek eksponowanych.

Franck twierdzi, że w reakcji fotolizy wody chlorofil *a* bierze bezpośredni udział poprzez atomy węgla 9 i 10 pierścienia cyklopentanowego, oznaczonego na schemacie 2 jako pierścień V. Przy tych dwóch atomach może zachodzić przekształcenie keto-enolowe. Eksponowane drobin chlorofilu *a* występują w formie ketonowej z tym, że keton ten jest zhydratyzowany, dzięki bezpośredniemu kontaktowi z wodą. Taka uwodniona forma ketonowa drobin chlorofilu ma widmo



Schemat 2

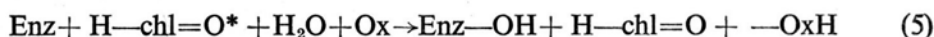
Układ wiązań w drobinie chlorofilu

absorpcyjne bardziej długofalowe od formy niewodnionej i od formy enolowej. Zgodnie z tym, co było powiedziane o procesie sensybilizowanej fluorescencji, z tej racji drobin takie są predysponowane do tego, by być obiektem, na który zostaje przeniesiona energia innych pobudzonych drobin.

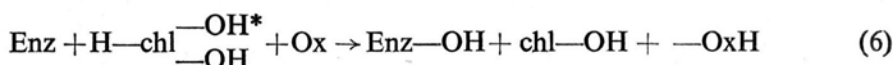
Wokół jednej eksponowanej drobin chlorofilu *a* grupuje się ok. 300 nieeksponowanych, położonych blisko siebie cząsteczek chlorofilu, które pochłoniętą przez siebie energię przekazują drobinom eksponowanym. Taką całość określono nazwą jednostka fotosyntetyczna (photosynthetic unit). Należy tu dodać, że wg niektórych

autorów na jednostkę fotosyntetyczną składa się nie 300 (Thomas i współpr., 1953), lecz 2500—3000 drobin chlorofilu (Emerson i Arnold, 1932).

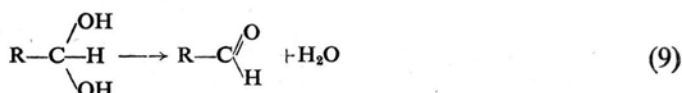
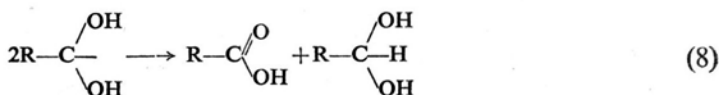
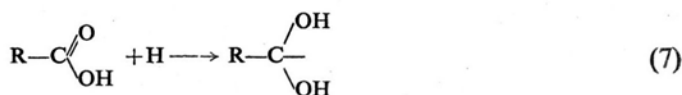
Ekspozowana drobina chlorofilu może być zasocjowana z białkiem, a mianowicie białkiem enzymu, biorącego udział w przenoszeniu produktów fotolizy wody. Według hipotezy Francka enzym ten nie przenosi, jak powszechnie przyjęto, wodoru, lecz właśnie grupę wodorotlenową. Nukleotydy pirydynowe nie biorą, wg omawianej hipotezy, udziału w procesie fotolizy wody. Proponowany przez Francka przebieg reakcji można zapisać następująco:



lub też



We wzorach tych H—chl=O to forma ketonowa, $\text{H—chl} \begin{array}{l} \text{—OH} \\ \text{—OH} \end{array}$ to uwodniona forma ketonowa, a chl—OH to forma enolowa chlorofilu *a*. Znaczek * oznacza pobudzoną drobinę. Enz — to enzym, a czynnikiem utleniającym oznaczonym Ox jest kwas glicerolowy. Jego przemiany można przedstawić jak następuje



Dwa wytworzone w reakcji 7 rodniki ulegają natychmiast dysmutacji (reakcja 8), w trakcie której odtwarza się jedna drobina kwasu, a z drugiego rodnika powstaje w reakcji 9 drobina aldehydu.

Reakcja 8 jest silnie egzotermiczna, ponieważ dokonywające się w reakcji 7 przyłączenie pierwszego atomu wodoru wymaga znacznie większego nakładu energii, niż przyłączenie drugiego atomu przenieszonego w procesie dysmutacji podanym równaniem 8, z jednego pierwotnego akceptora, ulegającego utlenieniu, na drugi, ulegający redukcji. Uzyskana energia może, ciągle wg Francka, być zużywana do syntezy ATP potrzebnego w cyklu Calvina.

Ewentualnie, w specjalnych warunkach, miejsce kwasu glicerolowego może zająć inny kwas organiczny. Nukleotydy pirydynowe (TPN i DPN) nie są, ciągle wg Francka, dobrymi akceptorami wodoru dlatego, że występują w komórkach roślinnych w zbyt małych stężeniach. Grają one rolę jedynie wtedy, kiedy brak

jest innych akceptorów, mogących fotochemicznie zużytkować energię aktywacji chlorofilu.

Na poparcie swojej tezy przytacza Franck dwa argumenty. Po pierwsze kwas glicerolowy może być akceptorem wodoru w reakcji Hilla, może więc być redukowany wodorem pochodzącym z fotolizy wody. Po drugie zaś istnieją inne jeszcze, oprócz asymilacji CO_2 , procesy fotochemiczne, zdolne do konkurowania z fotosyntezą o energię aktywacji chlorofilu. Dlatego akceptor wodoru powstałego w procesie fotolizy wody musi występować w takim stężeniu, by mógł się stać głównym odbiorcą energii słonecznej przetransponowanej, w tym wypadku, na energię chemiczną fotolizy. Przykładem «konkurenta» może być tlen. Według Francka, gdyby rywalem tlenu w stosunku do energii pobudzonych cząstek chlorofilu miały być jedynie nukleotydy pirydynowe występujące w zwykłym stężeniu, to zaburzenia procesu fotosyntezy wynikające z obecności tlenu byłyby większe i jego szkodliwy wpływ byłby widoczniejszy, niż się to de facto obserwuje.

Na zakończenie należy jeszcze dodać, że Franck, przedstawiając swoją hipotezę w podanej tu postaci (1960), zastrzega się, że być może pewne szczegóły ulegną, w trakcie dalszych badań, zmianom. Nie chce twierdzić, że każdy poszczególny człon jego rozumowania jest zupełnie pewny, w każdym szczególe oparty doświadczeniem. Chodzi mu jedynie o zasadniczy zarys, kościec, który, jego zdaniem, zmianom już nie ulegnie. Zasadnicze wnioski można streścić w następujących punktach:

1. Energia aktywacji wszystkich barwników chloroplastów zostaje za pomocą sensybilizowanej fluorescencji przekazana na mały ułamek ogólnej liczby drobin chlorofilu *a*, które dopiero zużywają ją w reakcjach chemicznych.

2. Te nieliczne drobinny chlorofilu *a* różnią się od pozostałych tym, że znajdują się w bezpośrednim kontakcie z wodą i fotosyntetycznym utleniaczem. Poza tym są one w stałym kontakcie z grupą prostetyczną enzymu, który jest pierwotnym akceptorem grupy hydroksylowej.

3. Te same cząsteczki chlorofilu *a* biorą przy pomocy piątego (izocyklicznego) pierścienia bezpośredni udział w reakcji fotochemicznej.

4. Znaczenie decydujące dla przebiegu procesów fotochemicznych w asymilujących tkankach ma współdziałanie obu głównych stanów pobudzenia cząsteczki chlorofilu *a*, a mianowicie pierwszego pobudzonego poziomu singletowego i metastabilnego poziomu tripletowego.

LITERATURA

- Arnold W. and E. S. Meek, 1956. The polarisation of fluorescence and energy transfer in grana. Arch. Biochem. 60, 82—90.
- Bannister T. T., 1954. Energy transfer between chromophore and protein in phycocyanin. Arch. Biochem. 49, 222—233.
- Calvin M., 1956. The photosynthetic carbon cycle. Conferences et Rapports présentés an 3-ème Congrès Int. de Biochemie Bruxelles, 1955, 211—225.

- Duysens L. N. M., 1952. The transfer of excitation energy in photosynthesis. Thesis. Utrecht. cyt. wg Handbuch der Pflanzenphysiologie, bd V, wyd. Ruhland, Springer Verlag 1960.
- Emerson R. and Arnold W., 1932. The photochemical reaction in photosynthesis. *J. Gen. Physiol.* **16**, 191—205.
- Franck J., 1953. Participation of respiratory intermediates in the photosynthesis as an explanation of abnormally high quantum yields. *Arch. Biochem.* **45**, 190—229.
- Franck J., 1960. Fluoreszenz des Chlorophylls in Zellen und Chloroplasten und ihre Beziehungen zu den Primarakten der Photosynthese. Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. V, wyd. W. Ruhland, Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 689—735.
- French C. S., 1960. The chlorophylls in vivo and in vitro. Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. V, wyd. W. Ruhland, Springer — Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 252—297.
- Jabłoński A., 1933. Efficiency of anti-stokes fluorescence in dyes. *Nature (Lond.)* **131**, 839.
- Kok B., 1960. Efficiency of Photosynthesis. Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. V, wyd. W. Ruhland, Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg, 568—633.
- Krasnowskij A. A. i Kossobudskaja L., 1952. Spektralnoje issledowanije sostojanija chlorofilla pri jego obrazowanii w rastienii i w kolloidnych rastworach wieszczestwa etiolirowanych listiew. *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **85**, 177—180.
- Loomis W. E., 1949. Photosynthesis — An introduction w Franc J. and Loomis W. E. Photosynthesis in Plants. Ames, Iowa, Iowa State College Press.
- Thomas J. B., Blaauw O. H. and Duysens L. N. M., 1953. On the relation between size and photochemical activity of fragments of spinach grana. *Biochim. Biophys. Acta* **10**, 230—240.