

Pokroky matematiky, fyziky a astronomie

Karel Vacek

Několik poznámek k biofyzikálním a fotofyzikálním základům fotosyntézy

Pokroky matematiky, fyziky a astronomie, Vol. 13 (1968), No. 1, 1--22

Persistent URL: <http://dml.cz/dmlcz/137204>

Terms of use:

© Jednota českých matematiků a fyziků, 1968

Institute of Mathematics of the Academy of Sciences of the Czech Republic provides access to digitized documents strictly for personal use. Each copy of any part of this document must contain these *Terms of use*.



This paper has been digitized, optimized for electronic delivery and stamped with digital signature within the project *DML-CZ: The Czech Digital Mathematics Library* <http://project.dml.cz>

NĚKOLIK POZNÁMEK K BIOFYZIKÁLNÍM A FOTOFYZIKÁLNÍM
ZÁKLADŮM FOTOSYNTÉZY

KAREL VACEK, Praha

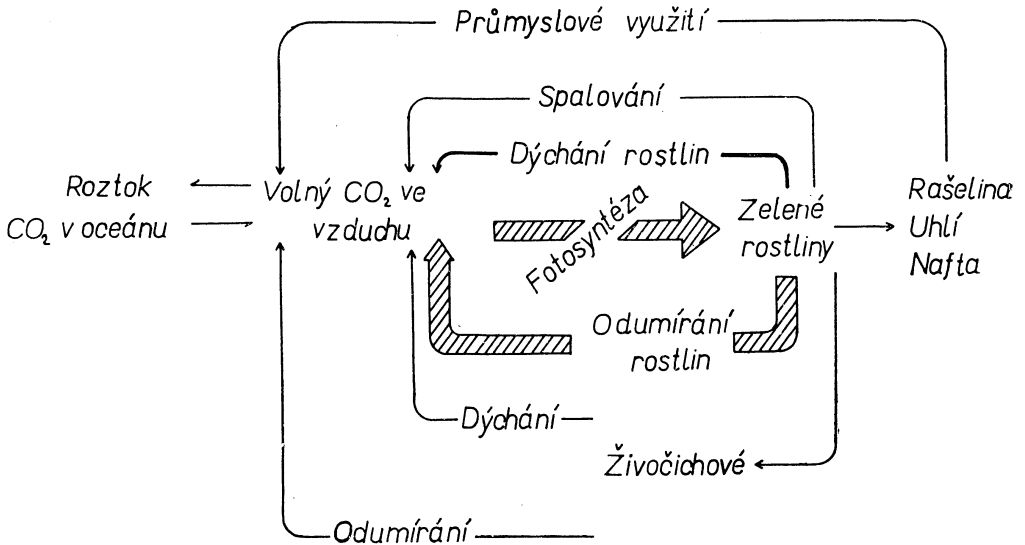
ÚVOD

Fotosyntéza je pochod, jímž zelené rostliny redukují CO_2 na uhlovodíky a oxidují vodu na O_2 . Tento děj ukládá do uhlovodíků asi 5,1 eV volné energie na atom uhlíku. Energie pochází od slunečního světla absorbovaného chlorofylem (event. barvivou, které ho doprovázejí). Protože celý pochod může probíhat i při červeném světle, usuzujeme z toho na to, že potřebná energie světelného kvanta pro celý děj je asi 1,8 eV. Dýchání rostlin i živočichů a spalování uhlí a oleje uzavírá pak pochod v opačném směru. Roční obrat [1] asi $2 \cdot 10^{11}$ tun uhlíku, který se účastní tohoto cyklu, poskytuje v potravě energii pro živé organismy.

Fotosyntéza je nepochybně nejdůležitější chemickou reakcí v celém světě. Je jedinou základnou naší potravy a převládajícím činitelem při dodávání surovin a energie v průmyslu. Lidstvo prodělalo bouřlivý vývoj až do nynější éry, aniž by se jím zmenšila jeho závislost na rostlinstvu a jeho unikátní schopnosti zužitkovat zářivou energii k redukcí CO_2 na biologicky a průmyslově zužitkovatelné látky. Přitom fotosyntéza je nejen základem naší existence, ale současně představuje i „průmyslovou výrobu“ o nesmírném objemu. Světová produkce ocele je řádově stovky miliónů tun ročně, kdežto světová produkce primárních fotosyntetizovaných látek je více než 2000krát větší. Již toto srovnání mluví samo za sebe o důležitosti celého pochodu.

Z toho, co bylo řečeno, jasně vyplývá klíčové postavení uhlíku, společně s vodíkem a kyslíkem, v celém fotosyntetickém pochodu; uhlík jakožto prvek v něm prochází určitým cyklem, jehož hlavních etap si krátce povšimneme. Celkový obsah uhlíku v troposféře se řádově rovná 600 biliónům tun. Oceány však mimoto obsahují přibližně 100krát více uhlíku ve formě roztoku CO_2 a uhličitánů, takže dostupné množství uhlíku je asi 50 biliónů tun, dostatečné množství pro 400–500leté trvání při uvažované rychlosti celkové fotosyntézy. Uhlík biosféry se rovněž navrácí do zužitkovatelné formy CO_2 , a to na rozdíl od dusíku, který uniká velmi často v nezužitkovatelné formě volného N_2 . Odumírání rostlin, dýchání rostlin i živočichů

a spalování všeho druhu navrací CO_2 do systému vzduch–voda. Podíl dýchání rostlin se odhaduje přibližně za 15% celkového podílu fotosyntézy, což odpovídá uvolnění přibližně 16 biliónů tun uhlíku každým rokem. Podíl dýchání všech živočichů se dá hůře odhadnout, ale celkové množství uhlíku uvolněné dýcháním lidí na celém světě je řádově 0,3 biliónů tun ročně. Tento uhlík se ovšem rekrutuje z rostlinné potravy buď přímo, nebo nepřímo přes živočichy, a představuje asi 80% roční produkce rostlinné fotosyntézy, jež se rozkládá mikroorganismy při pochodech odumírání nebo místního spalování.



Obr. 1. Oběh uhlíku v přírodě. CO_2 se při fotosyntéze odebírá ze vzduchu a z velké části se tam navrací při rozkladu látek účinkem mikroorganismů.

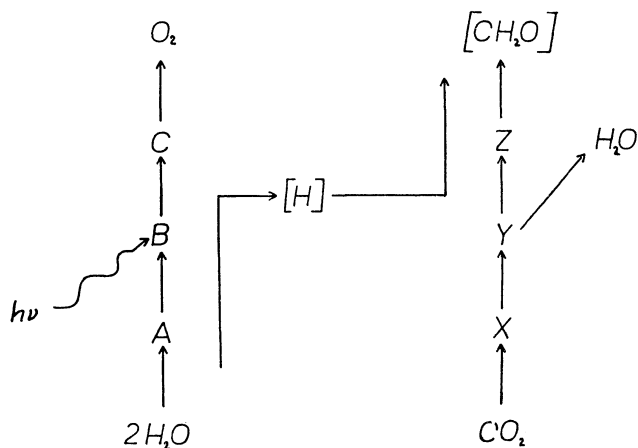
Hlavní cesty uhlíkového cyklu v troposféře jsou znázorněny graficky na obr. 1, kde relativní důležitost uvažovaných pochodů je vyjádřena šířkou čar. Uvnitř samotného oceánu vzniká podobný cyklus fotosyntézy–dýchání a odumírání, kdy část redukovaných uhlíkových sloučenin se usazuje na mořském dnu, kde se může přeměnit na ropu; protože dýchání rostlin a působení rozkladných organismů se řídí stejným sezónním chodem jako fotosyntéza a vzhledem k obrovskému pufrovacímu obsahu oceánů, zůstává obsah CO_2 ve vzduchu během roku v průměru asi 0,03 obj. %.

PŘÍJEM, PŘENOS A PŘEMĚNA SVĚTELNÉ ENERGIE PŘI FOTOSYNTÉZE

Způsob, jímž zelené buňky rostlin přeměňují elektromagnetickou energii na energii chemickou – při absorpci jak kyslíčnicku uhličitého a vody, jež jsou konečnými zplodinami živočišné buňky, tak i světla, a jak potom vyrábějí živiny, jež se stávají

počátkem spalovacího pochodu, je jistě jeden z nejpřitažlivějších a při tom i nejzáhadnějších pochodů přírody. Fotosyntéza je vlastně světlem indukovaná protichůdná reakce buněčného dýchání. Zahrnuje zřejmě dva aspekty – organickou syntézu (redukce a kondenzace CO_2 na uhlovodík) a uskladnění energie (přeměna světelné energie na potenciální chemickou energii).

Výchozími látkami v tomto ději jsou CO_2 a H_2O , jež obsahují prvky – uhlík, vodík a kyslík – v jejich nejnižším energetickém stavu vzhledem k biologickým pochodům. Chemická energie, jež se během tohoto děje akumuluje, je na následujícím schematickém obrázku znázorněna ve formě kyslíku na jedné straně (molekulární kyslík) a ve formě uhlovodíku na straně druhé (obr. 2). Pochod sám byl rozdělen



Obr. 2. Elementární schéma fotosyntézy.

[2] jak teoreticky, tak i fyzikálně na dvě poměrně snadno oddělitelná stadia. Prvé z nich je tvořeno absorpcí světla chlorofylem nebo jinými podobnými barvivy s následujícím rozdělením vody na redukční činidlo (na obrázku znázorněné $[\text{H}]$) a na určité oxidační fragmenty (na obr. nespecifikované), zřejmě na jeden z členů série A, B, C. Oxidační činidlo se nakonec stává molekulárním kyslíkem. Ve druhém stadiu redukční činidlo redukuje CO_2 na uhlovodík a ostatní rostlinné látky.

Abychom pochopili, jak se ve skutečnosti světelná energie hromadí v chemické formě, je třeba si předem všimnout její absorpce a přenosu v rostlinách. Absorpce světelné energie nastává jednak v molekulách chlorofylu, jednak v molekulách barviv doprovázejících chlorofyl – v karotenoidech a fykobilinu. Tato barviva mohou absorbovat ve spektrálních oblastech, kde absorpce chlorofylu je slabá nebo žádná, a absorbovanou energii přenášet na molekuly chlorofylu. Při tom absorpční akt v určité molekule barviva se může celkem neomezeně opakovat. Obor absorpce jednotlivých barviv je uveden v tabulce 1.

Vlastní přenos energie elektronové excitace mezi molekulami chlorofylu nebo barviv, které ho doprovázejí, může obecně proběhnout podle různých mechanismů. Prvý z nich, typický hlavně pro anorganické látky, je doprovázen *přenosem volných elektronů (děr)*, jinými slovy excitací elektronu (díry) do vodivostního pásu. Další mechanismy, typické hlavně pro organické látky lze shrnout asi takto:

a) Výměna excitační energie *emisí a reabsorpcí fotonu*. Pravděpodobnost takového pochodu je určena Lambertovým-Beerovým zákonem a geometrií systému. Doba života excitovaného stavu kterékoliv dané molekuly je ovšem neovlivněna. Přesto však doba excitace v konečném systému složeném z mnoha molekul může vzrůst zářením, které se znovu reabsorbuje [4]. Absorpční a emisní spektra jsou normální.

b) Srážka, jež zahrnuje přenos energie z excitované molekuly, se většinou nazývá „srážkou druhého druhu“ [5]. Protože partneři účastníci se srážky se při tomto ději těsně přiblíží, lze očekávat, že jejich energetické hladiny se podstatně naruší. Pravděpodobnost srážky druhého druhu závisí stejně na koncentraci jako kterákoliv bimolekulární reakce zahrnující excitovanou molekulu. Nutně vede k tlumení luminiscence.

Tabulka 1

Pořadí hlavních absorpčních pásů monovrstev, vrstev a koncentrovaných roztoků chlorofylu a (A) a barviv doprovázejících chlorofyl (B) podle [3]

A

Teplota °C	Monovrstvy a vrstvy				Roztoky v alkoholu	
	koncentrace		M			
20	$10^{-3} - 10^{-4}$	$10^{-2} (p_H=5)$	$10^{-2} - 10$ dní při 20°C		$0,8 \cdot 10^{-3}$	$0,2 \cdot 10^{-2}$
	418	418	420	418	413	417
	437	437	440	438	430	434
	674	672	674	672	663	667
	—	690	—	—	690	—
	—	700	—	—	700	700
	—	—	712	—	—	716
	—	—	—	740	740	740
-196	417	417	421	417	420	418
	436	437	440	437	440	438
	672	670	672	672	673	671
	—	688	—	—	690	—
	—	702	—	—	702	701
	—	—	717	—	—	720
	—	—	—	745	746	754

Látka	Teplota °C	Monovrstva a vrstva	Totěž po 24. hod.	Roztok v alkoholu
<i>β</i> -karotin	20	420	—	—
		—	426	428
		452	458	452
		482	494	479
	— 196	520	536	
		424	428	418
		457	460	442
		488	496	467
chlorofyl <i>b</i>	20	528	538	500
		438	438	428
		468	465	454
		658	656, 695	642
	— 196	440	440	448
		470	468	473
		656	654	659, 668, 695

Tím doba života excitovaného fluorescenčního stavu se snižuje o faktor rovný poměru pozorovaného výtěžku luminiscence k jeho maximální hodnotě. Odebere-li se jen část excitační energie srážkou druhého druhu, může přejít excitovaný atom do metastabilního stavu s poměrně dlouhou dobou života [6].

c) Intermolekulární (interatomický) přenos energie elektronové excitace může nastat přes mnohem větší vzdálenosti, než jsou srážkové rozměry vypočtené z kinetické teorie, nezářivým přechodem, který se často nazývá „induktivní rezonance“, „klasická rezonance“ nebo „senzibilovaná fluorescence“ [7]. Pravděpodobnost takové výměny excitace je komplexní funkce koncentrace, jež roste rychleji než lineárně. U atomárních systémů je přenos nejpravděpodobnější, nastane-li přesná nebo téměř přesná energetická rezonance mezi donorem a akceptorem; u molekul je největší tehdy, existuje-li velké překrytí emisního spektra donoru a absorpčního spektra akceptoru a jsou-li oba zářivé přechody velmi pravděpodobné. Je-li přítomen jen jeden druh molekul, induktivní rezonance nemění střední dobu života excitovaného stavu, s výjimkou vysokých koncentrací, kdy nastává vlastní tlumení. Ve směsi sloučenin rezonanční přenos energie může vést buď k poklesu doby života excitovaných stavů, jestliže pokles se projeví jako krátce žijící nefluoreskující molekula, nebo

k jeho prodloužení, je-li metastabilní molekulou. Absorpční a emisní spektra daných složek se obecně nezmění.

d) Rychlý přenos excitace v krystalech může nastat excitony [8]. Tento pochod je pravděpodobný, jen když existuje silná vzájemná vazba mezi molekulami, jež vytvářejí krystal. Výsledkem toho je výrazná změna v absorpčních a emisních spektrech. Doba života excitovaného stavu se snižuje.

To by byly hlavní typy mechanismů přenosu energie, jež mohou probíhat v organických látkách. Abychom zvolili nejvhodnější pro případ molekul chlorofylu, je třeba nejprve si blíže všimnout složení a struktury prostředí, v němž se chlorofyl nachází a kde probíhá i vlastní primární fotosyntéza.

Tímto prostředím v zelených rostlinách jsou tzv. chloroplasty. Jsou to přesně definovaná cytoplazmatická tělesa, která obsahují chlorofylová a karotenoidová barviva. Tato tělesa jsou schopna podílet se na fotosyntéze v prvním stadiu bez ohledu na ostatní konstituenty buňky.

V posledních deseti letech byla provedena řada měření zabývajících se submikroskopickou strukturou chloroplast, jež, jak bylo řečeno, jsou buněčnou strukturou obsahující chlorofyl. Elektronově mikroskopická pozorování provedená na vypreparovaném buněčném materiálu svého času ukázala, že nejdůležitějším strukturálním prvkem v chloroplastech vyšších rostlin jsou grana, prvně objevená v r. 1883 Meyerem. Jsou to válcovitá tělíska v průměru asi $0,5 \mu$ a dlouhá asi $0,3 \mu$. Uvedená grana se často dále dělila na soubory disků, z nichž každý měl tloušťku asi $0,01 \mu$, což nasvědčovalo tomu, že grana jsou sestavena z plochých kotoučů, patrně se střídajícími se proteinovými a lipidními vrstvami.

Grana nebo při nejmenším jednotlivé disky byly pozorovány na elektronově mikroskopických snímcích chloroplasty u velkého počtu druhů, přesto však některé fotosyntetizující buňky neobsahují tato tělíska; to platí zvláště o mnoha druzích algae.

Nedávno byla vyvinuta technika fixovaných buněk [10] kyselinou osmí. Jejich rozřezání na velmi tenké řezy a pozorování v el. mikroskopu ukázala úlohu gran v novém světle. Univerzálním strukturálním prvkem se projevily při řezech chloroplastou tzv. „lamellae“ (každá asi $0,01 \mu$ tlustá), jež procházejí celou chloroplastou. V závislosti na druhu a fyziologickém stavu buňky mohou tyto lamellae vytvářet více či méně výrazné aglomeráty přibližně válcovitého tvaru - oblasti, kde lamellae jsou zhuštěny a často i spárovány. Tyto zhuštěné válcovité oblasti lamelárního systému se jeví jako „grana“ na mikrofotografiích buněk.

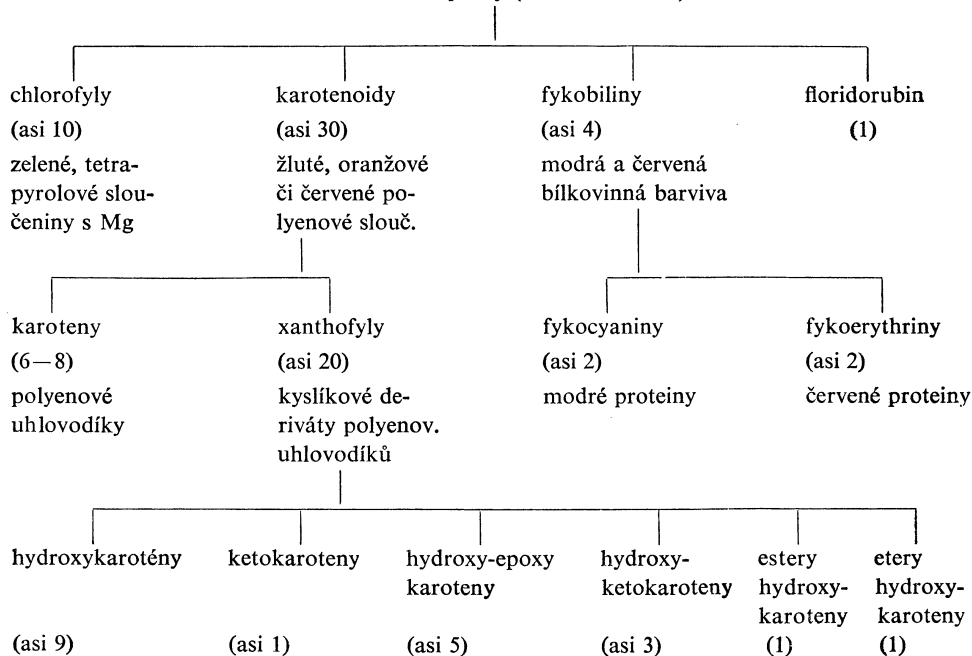
Ve vyšších rostlinách je granulární struktura typickým znakem zralosti fotosynteticky aktivních buněk; v algae, kde chloroplasty obvykle nemají pravidelný eliptický tvar charakteristický u vyšších rostlin, se dá obecně rozeznat samotná lamelární struktura. Jediná chloroplasta chlorella, na níž byla provedena velká část kvantitativních měření fotosyntézy, má zvonovitý tvar, a lamellae se řídí jejím obrysem [11].

Složení chloroplasty (asi $2/3$ proteinového a $1/3$ lipidního materiálu) a různé

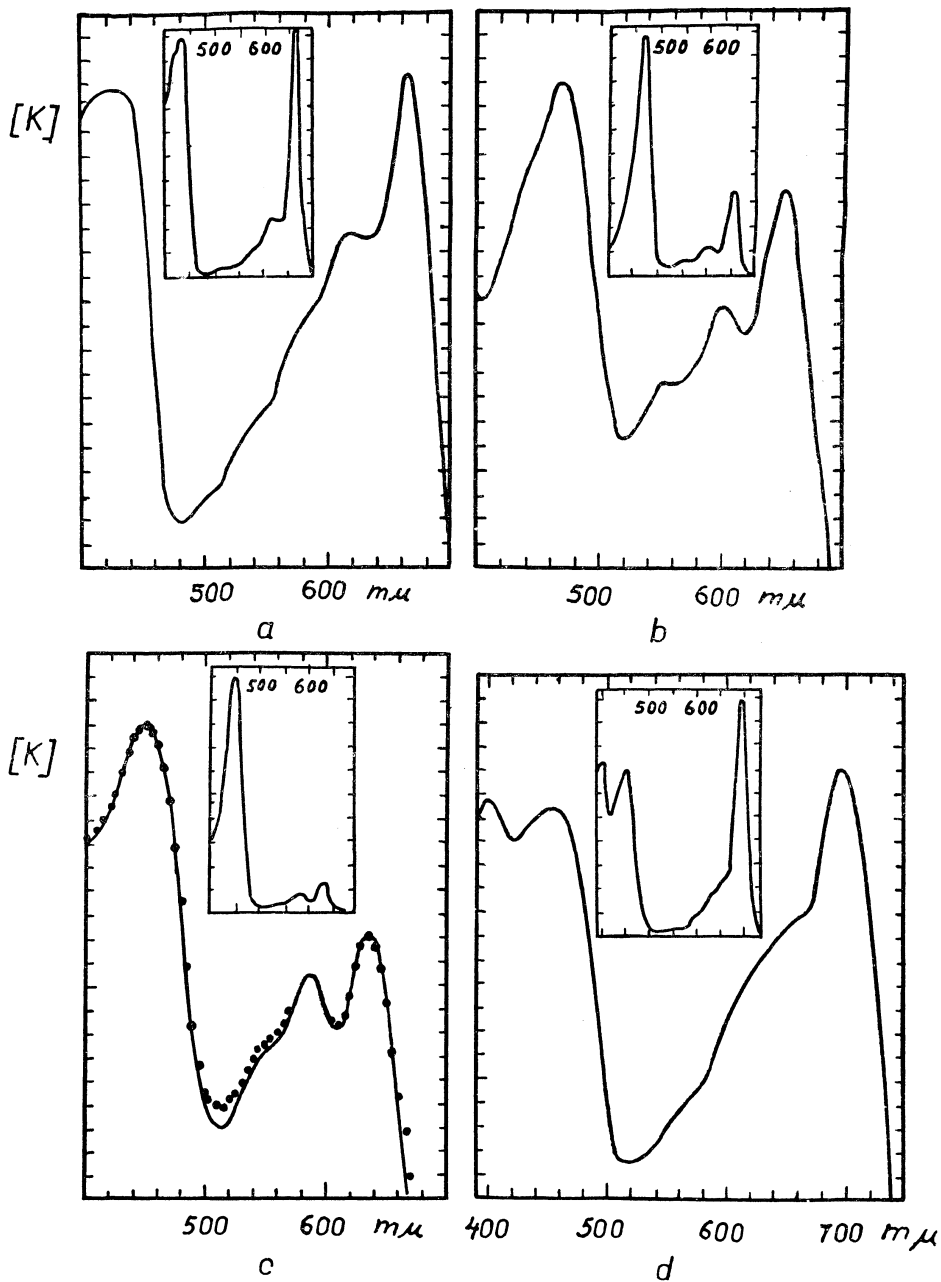
histologické pokusy naznačují, že lamelární systém se skládá ze střídajících se vrstev z více (či výlučně) lipidního složení. Chlorofyl se hromadí v granech, jak ukázala pozorování ve fluorescenčním mikroskopu a elektronově mikroskopická zkouška při tzv. Molischově reakci [12]. Dá se očekávat, že v jediném granu je asi několik miliónů chlorofylových molekul. Chlorofyl v chloroplastě vykazuje absorpční maximum u 6810 Å, a jeho luminiscence je velmi slabá. To svědčí o tom, že chlorofyl v chloroplastě by mohl spíše existovat ve stavu agregovaném než v monomérním.

Jak bylo řečeno, jsou chloroplasty velmi složité celky chemických sloučenin. Jejich funkce je kontrolována velkým počtem genů a samy obsahují i dědičné jednotky, jež určují některé jejich vlastnosti. Vzhledem k barvě a chemickým vlastnostem lze rozdělit barviva chloroplasty do tří hlavních skupin: chlorofylovou, karotenoidovou a fykobilinovou. Na základě chemického složení lze barviva v některých těchto skupinách shrnout do menších podskupin (viz tab. 2).

Tabulka 2
Hlavní druhy barviv v chloroplastě
Barviva chloroplasty (asi 50 nebo více)



Z uvedených barviv hrají při vlastní fotosyntéze rozhodující úlohu barviva typu chlorofyly. Molekula chlorofyly má tvar „papírového draka“ s plochou čtvercovou „hlavou“ a dlouhým ocasem. Hlavu tvoří aromatický, tetrapyrrolový kruhový systém (porfín). Obsahuje atom hořčíku ve středu a karbonylovou skupinu v krátkém postranním řetězci, čímž molekula získává určitou polaritu. K této části pak přiléhá



Obr. 4. Průběh absorpce chlorofylu a — a, chlorofylu b — b, chlorofylu c — c, chlorofylu d — d.

Chlorofyl e

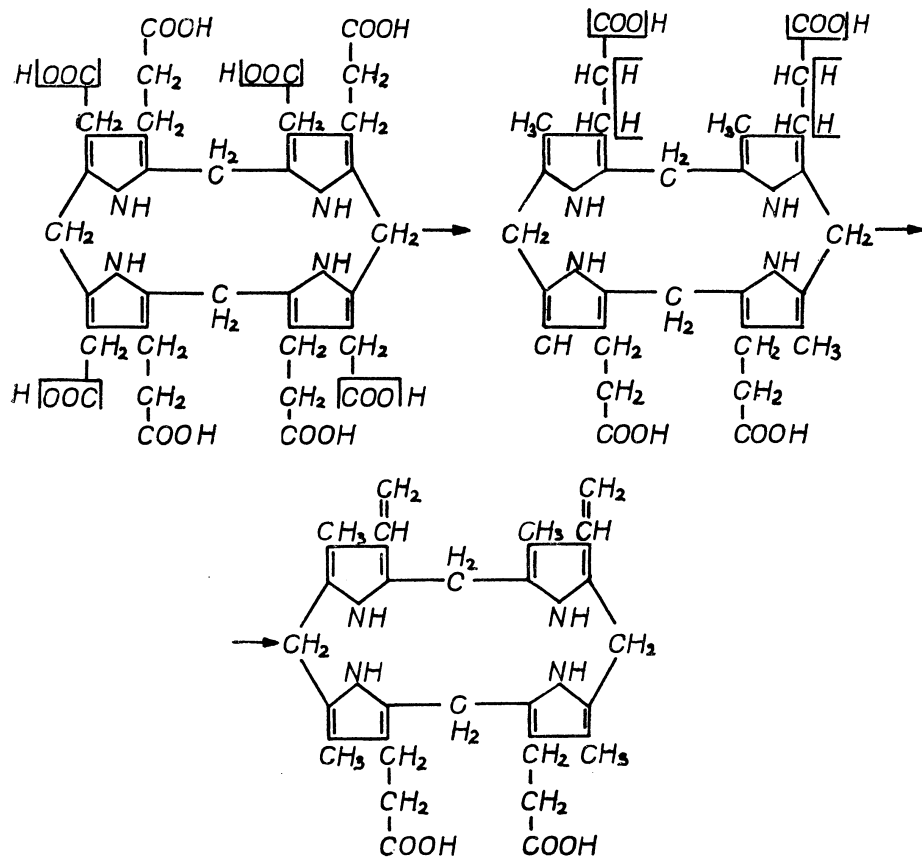
Abs. pásy v metanolu: 4150 Å; 6540 Å

Protochlorofyl (C₅₅H₇₀O₅N₄Mg)

Abs. pásy v eteru: 5710 Å; 6210 Å

Bacteriochlorofyl (C₅₅H₇₄O₆N₄Mg)

Abs. pásy v metanolu: 4000 Å; 6050 Å; 7700 Å



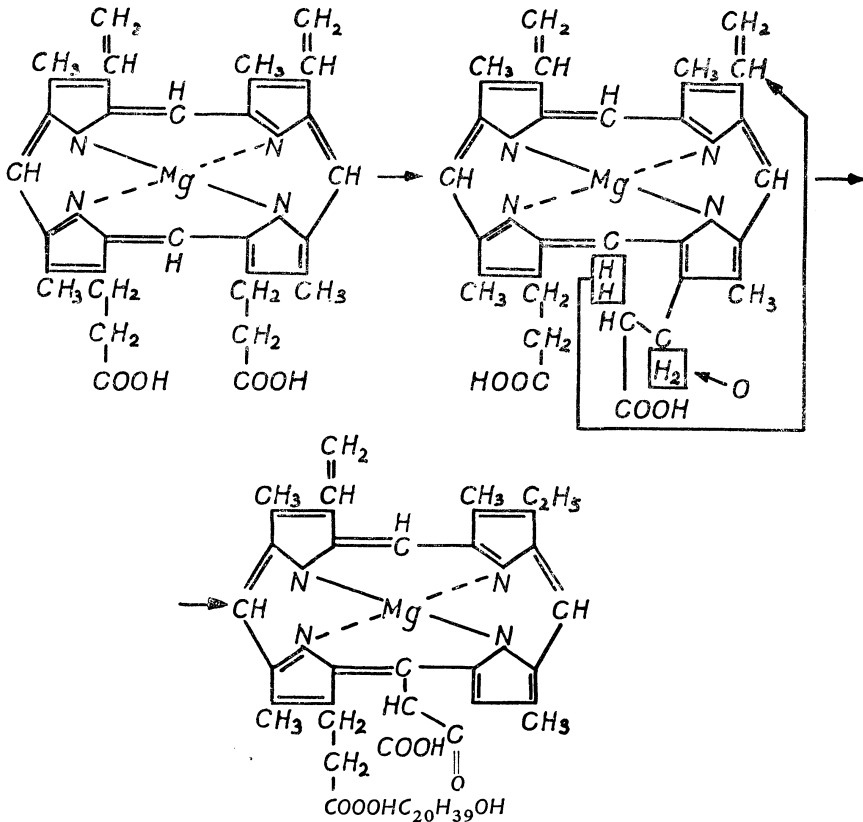
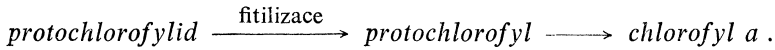
Obr. 6. Vznik protoporphyrinogenu.

Ke všemu, co bylo řečeno o barvivech uvedených v tab. 2, zbývá dodat, že si rostliny tato barviva vyrábějí samy při biosyntéze. Otázky biosyntézy barviv v chloroplastě našly široký ohlas v řadě článků a monografií [13]. Všimneme si krátce hlavně chlorofylu a karotenoidu. V celém řetězci biosyntézy zeleného barviva můžeme rozlišit tři hlavní etapy. Prvá etapa vychází od nejjednodušších sloučenin až po vznik porfobilinogenu (viz obr. 5). Druhá etapa probíhá od porfobilinogenu až po vznik protoporphyrinu. Reakce v této etapě jsou rovněž dostatečně prostudovány s výjimkou mechanismu přechodu porfobilinogenu na uroporphyrinogen (obr. 6). Konečně třetí

etapa probíhá od protoporfínu až na chlorofyl *a* a *b*; celý průběh byl objasněn teprve v nedávných letech (viz obr. 7 a 8). Přitom přechod od protochlorofylu na chlorofyl probíhá buď podle schématu



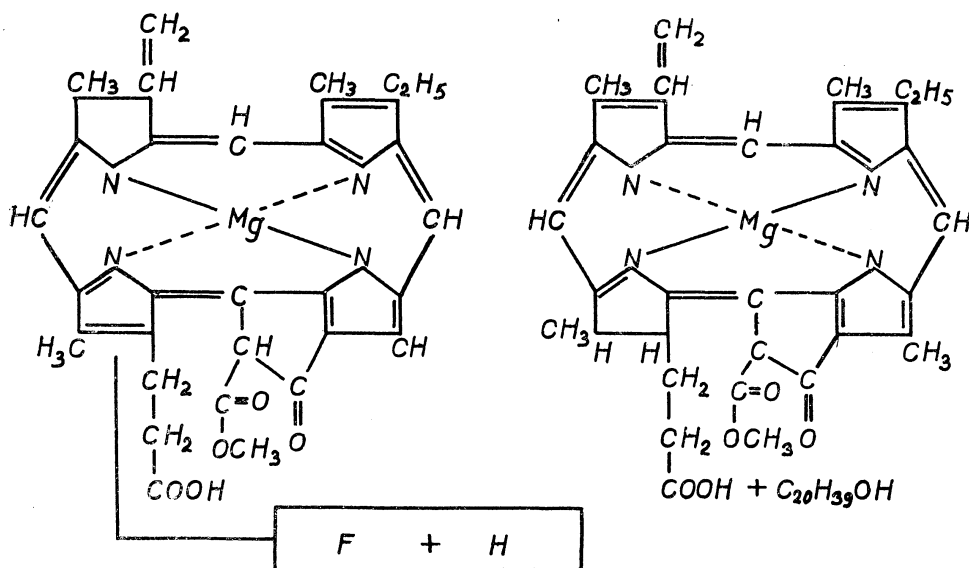
nebo



Obr. 7. Přechod protochlorofylu na chlorofyl (1. varianta).

Jestliže způsob biosyntézy chlorofylu je do značné míry vyjasněn, a to jak z hlediska biosyntetického řetězce, tak i z hlediska těch fermentů, které katalyzují reakce od jednoho člena ke druhému, pak v otázkách biosyntézy karotenoidů zůstává stále nejasná celá řada podstatných otázek. Prvá etapa probíhá zřejmě od mevalonové kyseliny až na tetramethylhexadekanol, další etapa od tetramethylhexadekanolu až po hexanyl pyrofosfát, třetí etapa až po fytol a konečně čtvrtá etapa přes fytofluen na karotin a dále na likopin.

Závěrem je třeba k tomu všemu dodat, že biosyntéza obou shora probíraných barviv je teplotně omezena; biosyntéza chlorofylu probíhá jen do teplot -2°C a karotenoidů jen do teploty -5°C . Samotná fotosyntéza probíhá až do teploty -14°C . Tento rozdíl teplot lze vysvětlit tím, že pochody fotosyntézy probíhají zcela uvnitř chloroplasty obklopené dvojítm obalem, kde se energie absorbovaná barvivou částečně mění na energii tepelnou (čímž se zvýší místně i teplota). Na druhé straně část pochodů biosyntézy barviv (chlorofyl) probíhá v mitochondriích, jež přiléhají k chloroplastě, a tím jsou teplotně mnohem citlivější.

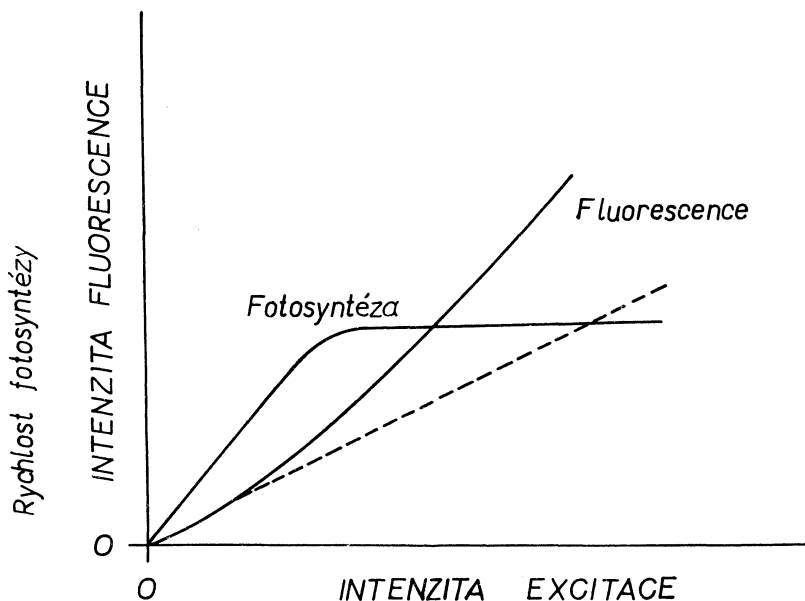


Obr. 8. Přechem protochlorofylu na chlorofyl (2. varianta). *F* — ferment, *H* — donor vodíku.

Světelná energie pohlcovaná v právě probíraných rostlinných barvivech však obecně není zcela využita pro fotosyntézu, ale již v molekulách barviv se mohou z fyzikálního hlediska uplatňovat některé konkurenční děje, z nichž za zmínku stojí děje luminescenční (fluorescence a fosforescence).

I když fluorescence zelených rostlin byla známa již od doby Stokesovy, teprve v posledních letech byla podrobně prostudována. Emise luminescenčního záření vybuzenou molekulou chlorofylu je, jak známo, jedna z možných cest přeměny energie absorbovaného světelného kvanta. Nastává asi $5 \cdot 10^{-9}$ sec po vybuzení molekuly pigmentu a jen tehdy, jestliže v tomto čase nedošlo k jiným nežádoucím přeměnám této přebytečné energie. Vybuzená molekula až do uvedeného okamžiku mohla zcela převést energii vzbuzených elektronů na kmitovou energii mřížky, mohla přejít v metastabilní stav (nefluorescenční) nebo vstoupit do vratných (či nevratných) chemických reakcí s molekulami prostředí. Každá z těchto přeměn molekuly vede k jejímu vyčlenění jakožto možného zdroje záření, tj. tlumí její lumi-

niscenční účinnost. Tím tedy příčinou tlumení chápaném v takovémto širokém smyslu budou všechny pochody (fyzikální i chemické), které povedou ke zmenšení množství molekul schopných fluorescence v ozářeném systému. Význam těchto pochodů lze pak ocenit z měření kvantového výtěžku luminiscence. LATIMER se spolupracovníky [17] ukázal, že tato fluorescence představuje asi 2—3 % energie absorbovaného světla v oblasti, kde rychlost fotosyntézy je lineární funkcí světelné intenzity. Přesnost všech těchto měření však není veliká, což souvisí se značným vlivem reabsorpce na výsledky měření. WEBER a TEAL [18] při měření kvantových výtěžků fluorescence chlorofylu *a* v benzolu a ethylalkoholu dostali hodnotu 0,30. Pro chlorofyl *b* byly tyto hodnoty asi 0,12 a 0,09. Z těchto výsledků je vidět, že podíl nežářivých přechodů je poměrně veliký a pro chlorofyl *a* představuje asi 70%.



Obr. 9. Průběh fotosyntézy a fluorescence v závislosti na intenzitě budícího záření.

Řada odborníků studovala fluorescenci v závislosti na intenzitě excitačního záření. Typický výsledek získaný FRANCKEM [19] je na dalším obrázku 9. Z něho je vidět, že při nízkých světelných intenzitách je velikost fotosyntézy úměrná intenzitě excitačního záření. Při vyšších světelných intenzitách se tato veličina stane nezávislou na světelné intenzitě, tj. je saturována. Z obrázku je patrné, že v oblasti intenzit světla, kde fotosyntéza je saturována, směrnice fluorescenční křivky se zdvojnásobí. Pro vysvětlení této závislosti vypracovali autoři hypotézu o narkoticky působících látkách, jež mohou vznikat v rostlinách a adsorbovat se na povrchu chlorofylproteinu, jejichž účinkem se sníží fotochemická aktivita chlorofylu, a tím vzrůstá jeho výtěžek fluorescence; při tom vztah mezi stacionární fotosyntetickou rychlostí a výtěžkem fluorescence lze pak snadno vysvětlit jako důsledek konkurenčních dějů mezi látkami,

jež se mají fotosyntetizovat, a narkotickými látkami v umístění na povrchu chlorofylových molekul.

Spektrální průběh luminiscence chlorofylu *a* a *b* byl měřen řadou autorů. Některé výsledky jsou shrnuty v další tabulce [20].

Tabulka 3

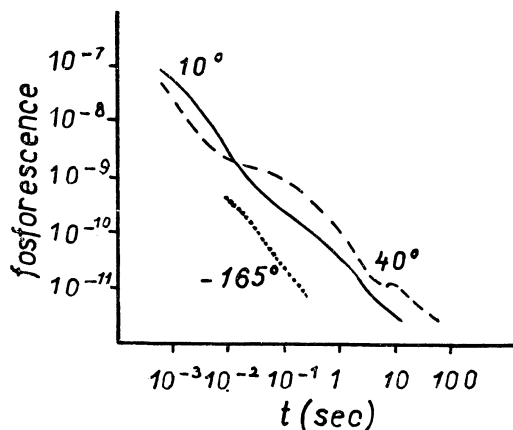
Luminiscence různých forem chlorofylu v monovrstvách, vrstvách a roztocích (poloha maxim v nm)

Teplota °C	Roztoky v alkoholu	Monovrstva po foto-vybělení	Různé typy monovrstvy a vrstev -196°C		
20	10^{-4} — 10^{-5}	$2 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$2 \cdot 10^{-2}$
	666 671 718 724 735	674—678 722	682—5 700 720—4	685 700 724 738—740	685 — 724 740 752
-196	681 676 728 720 740 752 775				

Luminiscence chlorofylu *b* (poloha maxim v nm)

Teplota °C	Roztoky v alkoholu	Monovrstva	Vrstva
20	10^{-4} — 10^{-5}		
	646 700	662 713	662 — 728 738
-196	668 713	685 732	701 738 766

Porovnáme-li tyto výsledky s polohou absorpčních maxim uvedených na začátku článku, vidíme, že v monovrstvách a vrstvách chlorofylu při určitých podmínkách patrně vzniká několik různých typů agregovaných forem barviva [20]. Při poměrně malých koncentracích ($s = 70 - 130 \text{ \AA}$) je vrstva téměř homogenní a zřejmě představuje určitou monovrstvu („stlačený dvourozměrný plyn“) s maximem absorpce $672 - 5 \text{ nm}$. Avšak výsledky získané při měření luminiscence ukazují, že již v tomto systému existují oblasti agregátů nebo uspořádání s mnohem dlouhovlnnějšími maximy luminiscence ($685, 700, 720$). Dosáhne-li hustota molekul barviva na povrchu v monovrstvě ($70 - 40 \text{ \AA}$), nastane zřejmě mnohem efektivnější vznik agregátů, jenž se projeví již i v absorpčních spektrech vrstev ($600, 700, 715 - 720$). Další růst koncentrace vede pak ke vzniku uspořádanějších forem (abs. maxima $740 - 750 \text{ nm}$).



Obr. 10. Zhášení fosforescence pro tři různé teploty u *Chlorella*.

K tomu, co bylo řečeno, je třeba dodat, že zelené rostliny vykazují i silnou fosforescenci. Ta má stejné spektrální složení jako fluorescence a byla pozorována v rozmezí časů $5 \cdot 10^{-5} - 6 \cdot 10^3 \text{ sec}$ [21]. Na obrázku 10 je vidět, že zhášení luminiscence není exponenciální, ale že je přibližně úměrné převrácené hodnotě času. Přitom relativně dlouhá doba zhášení, právě tak jako malý vliv teploty, vedly TOLLINA [22] k názoru, že tato fosforescence je rekombinačního charakteru. Extrapolujeme-li křivky zhášení ke kratším časům, je vidět, že převážná část luminiscence zelených rostlin *in vivo* je vlastně fosforescencí.

Na závěr je třeba shrnout i energetickou bilanci celého fotosyntetického pochodu vzhledem k absorbované světelné energii.

Obecně se dnes připouští, že zelené rostliny absorbují 8 kvant světla na redukci jedné molekuly CO_2 . Výzkum s radioaktivním uhlíkem ukázal, že CO_2 se neúčastní žádné fotochemické reakce. Redukce uhlíku je řadou enzymatických reakcí, jež mohou probíhat i v temnu. Hnací silou tohoto tzv. Calvinova cyklu jsou elektrony

Jestliže se tedy při redukci jedné molekuly CO_2 spotřebuje 8 kvant (z nichž každé má energii cca 1,8 eV) a celý pochod je energeticky charakterizován potenciálním rozdílem 1,2 V, což odpovídá 5,76 eV, je zřejmé, že účinnost celého pochodu fotosyntézy je asi 40 %. Tato vysoká účinnost napovídá, že místo, v němž vzniká redukční činidlo, je odděleno od místa, v němž vzniká oxidační činidlo.

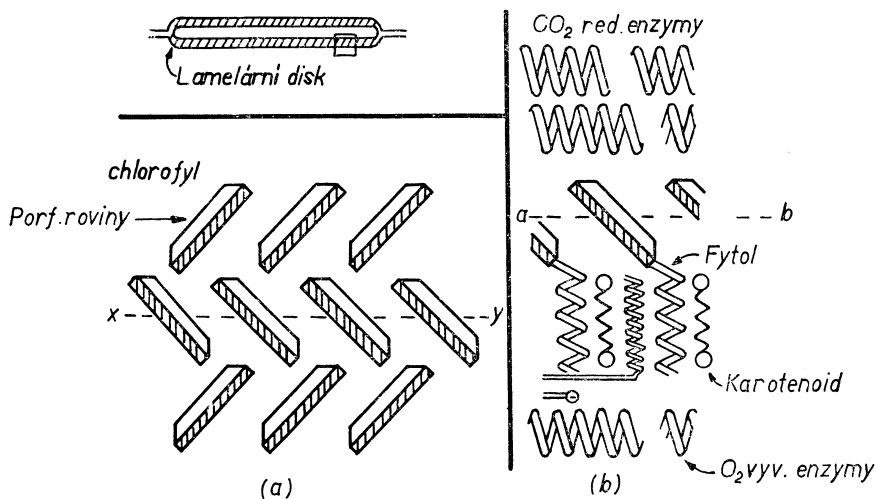
NĚKTERÉ OTEVŘENÉ OTÁZKY FOTOSYNTÉZY

Z toho, co bylo řečeno již v předchozích částech tohoto článku, je zřejmé, že jednou z klíčových otázek vedoucích k pochopení mechanismu přenosu energie v molekulách chlorofylu a barviv doprovázejících chlorofyl, je jejich uspořádání a struktura v rostlinách *in vivo*. Názory na tuto otázku jsou často rozdílné a všimneme si proto jen dvou hlavních směrů. RABINOWITCH [24] na základě polohy abs. pásů i možností uspořádání molekul barviv dospěl k názoru, že jestliže chlorofyl vytváří monovrstvy na proteinových molekulách v živých buňkách, mohou být tyto monovrstvy jen amorfní a nekystalické. Tyto jeho závěry potvrzuje podle jeho názoru i slabý dvojlom a dichroismus v chloroplastách. Na základě těchto závěrů považuje pak za přijatelnou pracovní hypotézu to, že chlorofyl *in vivo* je rozptýlen v lamelách, jak je vidět i na snímcích z elektronového mikroskopu, v nekystalických, monomolekulárních vrstvách. V chloroplastě s granami může být rozložení chlorofylu omezeno na lamelární povrchy uvnitř grany; průměrná vzdálenost mezi dvěma sousedními molekulami chlorofylu by byla asi 1 μm . Alternativně pigmentová pokrývka neměla by být přerušena, ale jen ztenčena v intergranulárních oblastech lamel. Možný přenos energie v monovrstvách uvažovaného typu podrobně probereme v další kapitole.

Na druhé straně řada dalších autorů dospěla na základě spektroskopických měření absorpce a luminiscence k poněkud odlišným závěrům. Např. LITVIN [20] předpokládá, že ve vrstvách barviv chloroplasty vzniká při dostatečně vysoké koncentraci barviv systém energeticky vzájemně se ovlivňujících forem pigmentů, analogický systému, jež pozorujeme v modelových podmínkách (monovrstva, vrstva, koncentrovaný roztok barviva). Realnost tohoto předpokladu se opírá o tyto závěry: a) Existenci složité struktury abs. spektra a luminiscence chlorofylu *in vivo*; řadu těchto maxim lze nalézt i v modelových vzorcích. b) Zvětšení intenzity dlouhovlnných maxim s růstem koncentrace pigmentu v chloroplastě. c) Existenci přechodu energie z „krátkovlnných“ forem chlorofylu a barviv doprovázejících chlorofyl na „dlouhovlnné“ formy chlorofylu. d) Souhlas spektrálních i jiných charakteristik komplexů chlorofylu a karotenu v modelovém vzorku a v listech rostlin. Na základě uvedených faktů se Litvin domnívá, že chlorofyl a barviva, která ho doprovázejí, mají výraznou schopnost k tvoření různých typů polymerních (i krystalických) struktur. Tato vlastnost fotosyntetizujících barviv může být zřejmě srovnána s analogickými vlast-

nostmi ostatních biologicky důležitých sloučenin (bílkoviny, nukleové kyseliny) a je pravděpodobně velmi důležitá.

Celkem k podobnému závěru jako Litvin dospěl i CALVIN se spolupracovníky [2]. Předpokládá, že struktura lamely je tvořena při nejmenším ze čtyř složek (viz obr. 13). Proteinové enzymy působící při redukci CO_2 jsou na vnějším okraji disku.



Obr. 13. Schematické znázornění možné molekulární struktury pro lamella.

Proteinové enzymy na vnitřní straně disku působí při uvolňování O_2 . Oddělení obou pochodů (redukce CO_2 a vznik O_2) je dosaženo vrstvou chlorofylu uspořádanou charakteristickým aromatickým způsobem. Je to velmi charakteristická skladba uspořádání. Aromatické kruhy nezapadají na sebe v rovinách, ale leží tam pod úhly, přibližně 45° k ose uspořádání, nad sebou. Tento typ uspořádání se předpokládá pro chlorofyl. Předchozí obrázek představuje molekuly chlorofylu zabudované tímto způsobem. Mezi nimi jsou zabudovány karotenoidy a fosfolipidy. Vedle dosud otevřené otázky uspořádání chlorofylu a barviv, která ho doprovázejí v rostlinách, zůstává otevřená (vlivem nedořešené předchozí otázky) i otázka vlastního přenosu energie v molekulách chlorofylu po absorpci světelné energie. Calvin sám předpokládá, že po absorpci se exciton pohybuje podél několika molekul chlorofylu, až najde vhodné místo pro ionizaci; odtud se elektrony pohybují jedním směrem, kdežto díry opačným směrem. Tím jedna strana vede k vývoji kyslíku a opačná k redukci uhlíku. Řada modelů zabývajících se rozбором přenosu energie v molekulách barviv vychází z existence tzv. fotosyntetické jednotky (FSJ), která představuje seskupení určitého počtu molekul barviva.

Úloha FSJ jakožto jednotky pro přenos energie, absorbované kdekoliv v agregátu molekul barviva, byla přijata většinou autorů. Na základě počátečních diskusí FRANCKA a TELLERA o fyzikálním mechanismu pro přenos energie ve FSJ rozvinuly se

v podstatě dva rozdílné směry. Prvý v podstatě vychází z toho, že přenos energie mezi přilehlými molekulami barviva se děje na základě slabých (dipól-dipól) rezonančních interakcí. Druhá skupina vychází z nejrůznějších mechanismů založených na silné interakci mezi sousedními molekulami barviva a předpokládá existenci vodivostních pásů, volných excitonů a difúzi elektronů a děr (často v hrubých rysech „polovodičový model“). Uvedme z obou směrů alespoň po jednom příkladu.

FÖRSTER [25] vycházejí z dřívějších prací PERRINA a VAVILOVA, navrhl teorii rezonančního přenosu excitační energie, který se zakládá na vzájemně indukované interakci mezi dvěma molekulami, jež jsou obě schopné excitace na stejnou energetickou hladinu. Předpokládal, že pro typické molekuly barviva (tj. molekuly se silnými absorpčními pásy ve viditelné oblasti spekter) pravděpodobnost přenosu energie během doby excitace 10^{-8} sec se musí rovnat pravděpodobnosti fluorescence, jestliže se vzdálenost mezi molekulami zmenší na ~ 10 m μ , tj. asi desetnásobku jejich kinetického srážkového průměru. Tato pravděpodobnost, a tím i průměrná délka přenosového řetězce, je nepřímě úměrná šesté mocnině vzdálenosti. Proto je přímo úměrná čtverci koncentrace (interakční síla je pak vlastně silou mezi dvěma vzájemně indukovanými dipóly podle stejného zákona jako jsou van der Waalsovy intermolekulární síly). Pokusy potvrzují, že přenos energie mezi molekulami v roztoku je účinný, ne-li účinnější, než jak předvídají Försterovy výpočty. Za geometrického uspořádání molekul barviva, jak předpokládal např. Rabinowitch, přenos energie v rovině monovrstvy by měl být velmi účinný a přenosové řetězce řádu $10^2 - 10^3$ by se mohly lehce uplatnit během existenční doby 10^{-9} sec. Tento model byl postupně kritizován [26] i upřesňován; v poslední době byl zpřesněn např. BAYEM a PEARLSTEINEM [27]. Autoři vycházejí z FSJ jakožto agregátu molekul barviva a současně jakožto aktivního centra — pasti vázané na lipid-proteinové okolí. Uvažují dále přenos energie shlukem molekul chlorofylu a z pasti; (vlastní přenos podle autorů nezávisí na tom, zda chlorofyl *a* byl excitován doprovázejícími ho barvivy či přímo elmag. polem). Past ve svém modelu si představují jako dokonalý energetický skok (když je past neobsazena) umístěný v geometr. středu FSJ. Dále předpokládají pravidelné uspořádání molekul barviva a pro vlastní výpočet uvažují interakce jen od nejbližších sousedů (které reprezentují asi 80% interakční energie), čímž se původní rovnice, charakterizující rezonanční přenos v nekoherentním případě, redukuje na jedinou diferenciální rovnici druhého řádu, kterou autoři pak aproximují známou difúzní rovnicí

$$(\partial/\partial t + 1/\tau) \varrho(\mathbf{r}, t) = A \nabla^2 \varrho(\mathbf{r}, t).$$

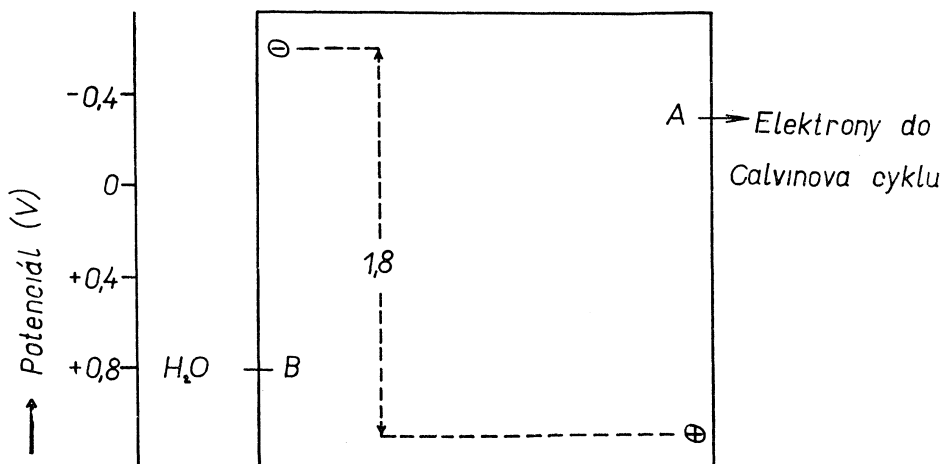
Zde ϱ je hustota excitační pravděpodobnosti, \mathbf{r} je vektor určující souřadnice ve dvoj- či trojrozměrném prostoru, τ relaxační konstanta a A difúzní konstanta. Řešením dostávají autoři přijatelné výsledky jen pro trojrozměrný případ.

Jako druhý model, spadající do skupiny modelů založených na silné, resp. střední interakci si uvedeme model W. ARNOLDA (obr. 14) [21]. Na obrázku představuje čtverec FSJ, složenou z 500–600 molekul chlorofylu. *A* a *B* jsou dvě reakční centra.

Absorpce světla kteroukoliv z 500 chlorofylových molekul vytvoří exciton, který se může pohybovat celou FSJ. Exciton, který zasáhne reakční centrum *A*, se rozloží na volnou díru v chlorofylu a elektron vázaný v *A*. Tento elektron, při $-0,4$ V, se může zúčastnit Calvinova cyklu či elektronového přenosového řetězce, který vyrábí ATF. Druhý exciton nemůže reagovat s *A*, dokud elektron neopustí centrum. Podobně exciton může reagovat v *B* za vzniku díry a volného elektronu v chlorofylu. Opět druhý exciton nemůže reagovat s *B*, dokud díra nebyla využita při oxidaci vody.

Fotosyntetická jednotka

500-600 molekul chlorofylu



Obr. 14. Schéma elektron-děrového přenosu při fotosyntéze.

Volný elektron a díra se mohou pohybovat v chlorofylu až do jejich rekombinace za vzniku excitonu. Tento pohyb vytváří elektronový vodič, který předpokládá autor mezi *A* a *B*. Hlavní body, jež podporují navržený model, jsou přibližně tyto: 1. Při nízkých intenzitách světla, kdy fotosyntéza je velmi účinná, dává model pravděpodobnost 0,9 pro to, že světelné kvantum bude využito pro fotosyntézu. 2. Při vysokých intenzitách světla, nad saturaci fotosyntézy, je při zaplněných centrech pravděpodobnost, že exciton se přemění na teplo 0,95.

Z toho, co bylo uvedeno, vysvítá, že fyzikální základy fotosyntézy jsou zatím objasněny jen v hrubých rysech. Celý komplex otázek, které souvisejí s přenosem energie v molekulách barviv a s jejím zužitkováním při fotosyntéze, si patrně ještě vyžádá hlavně tří zpřesnění:

- a) Kvantitativní studium mikrofyzikální podstaty agregovaných molekul barviva v chloroplastě.
- b) Kvantitativní proměření fotofyzikálních pochodů v rostlinách in vivo.

c) Využití teoretických metod fyziky pevných látek používaných při studiu přenosu energie v organických látkách (krystalických i amorfních) pro zpracování experimentálních závěrů sub a) a b).

Závěrem je tedy možno říci, že otázky fotosyntézy byly doposud velmi intenzivně studovány biology, chemiky, ale fyzikální výzkum je stále zatím ve stadiu, které charakterizovalo např. fyziku pevných látek před druhou světovou válkou. A přitom celý tento rozsáhlý vědní obor by si nejen pro samotnou fyziku, ale i pro celou společnost zasloužil daleko intenzivnějšího studia na celém světě, a tedy i u nás.

Literatura

- [1] W. E. LOOMIS, *Photosynthesis in Plants*, Iowa State College Press, Iowa, 1950, 1.
- [2] M. CALVIN, *Rev. Mod. Physics* 31 (1959), 1, 147.
- [3] F. F. LITVIN, *Biochimija i biofizika fotosintéza*, Izd. Nauka, Moskva, 1965, 96.
- [4] P. PRINGSHEIM, *Fluorescence and phosphorescence*, Inters. Publ., N. Y., 1949, 60.
- [5] O. KLEIN, S. ROSSELAND, *Zs. für Physik* 4 (1921), 46.
- [6] Citace [4], str. 99.
- [7] K. KALLMANN, F. LONDON, *Zs. physik. Chem. B* 2 (1928), 207.
S. I. VAVILOV, *Jl. Phys. URSS* 7 (1943), 141.
T. FÖRSTER, *Ann. Physik* 2 (1948) 55.
- [8] J. FRENKEL, *Phys. Rev.* 37 (1931), 17, 1276.
R. PEIERLS, *Ann. Physik* 13 (1922), 905.
J. FRANCK, E. TELLER, *J. Chem. Phys.* 6 (1938), 861.
- [10] E. RABINOWITCH, *Jl. Chem. Phys.* 61 (1957), 870.
- [11] P. A. ALBERTSON, H. LEYON, *Exptl. Cell. Res.* 7 (1954), 288.
- [12] J. B. THOMAS, O. H. BLAAUW, L. N. M. DUYSENS, *Biochim. Biophys. Acta* 10 (1953), 230.
- [13] T. N. GODNĚV a další, *Biochimija i biofizika fotosintéza*, Izd. nauka, Moskva, 1965, 126.
- [14] L. BOGORAD, *Comparative Biochemistry of photoreactive systems*, N. Y., 1960, 227.
- [15] THOMAS a další, *Acta Botanica Neerlandica* 5 (1956), 315.
- [16] E. A. HANSON, *Proc. Roy. Acad. Amsterdam* 40 (1937), 281.
- [17] P. LATIMER, T. T. BANNISTER, E. RABINOWITCH, *Science*, 124 (1956), 585.
- [18] G. WEBER, F. W. TEALE, *Trans. Faraday Soc.* 53 (1957), 646.
- [19] J. FRANCK, *Photosynthesis in Plants*, Iowa State College Press, Iowa, 1950, 293.
- [20] F. F. LITVIN, *Biochimija i biofizika fotosintéza*, Izd. nauka, Moskva, 1965, 112.
- [21] W. ARNOLD, *Jl. Phys. Chem.* 69 (1965), 3, 788.
- [22] G. TOLLIN, E. FUJIMORI, M. CALVIN, *Proc. Mat. Acad. Sci. U. S.* 44 (1958), 1035.
- [23] *Photosynthetic Mechanisms of Green Plants*, Mat. Academy of Sciences, Washington, D. C., 1963.
- [24] E. E. JACOBS, A. S. HOLT, E. RABINOWITCH, *J. Chem. Phys.* 22 (1954), 142.
- [25] T. FÖRSTER, *Naturwiss.* 33 (1946), 166, *Ann. Physik*, 2 (1948), 55.
- [26] FRANCK J., LIVINGSTON R., *Rev. Mod. Phys.* 21 (1949), 505.
- [27] BAY Z., PEARLSTEIN R. M., *Proc. N. A. S.*, 50 (1963), *Biochemistry*, 1071.

Další použitá literatura:

- M. D. KAMEN, *Primary Processes in Photosynthesis*, Academic Press, 1964.
- Leo P. VERNON, G. R. SEELY, *The Chlorophylls-Physical, Chemical and Biological Properties*, Academic Press, 1966.