УДК 543.422.3:615.322.073

РАЗНОВИДНОСТИ АБСОРБЦИОННЫХ СПЕКТРОВ ЭТАНОЛЬНЫХ ИЗВЛЕЧЕНИЙ ИЗ ЛИСТЬЕВ РАСТЕНИЙ

© 2014 В.М. Колдаев

Горнотаежная станция им. В.Л. Комарова ДВО РАН п. Горнотаежное

Поступила 21.04.2014

В данной статье рассмотрены закономерности соотношений содержания в зеленых листьях хлорофиллов и других пигментов. Зарегистрированы спектры поглощения экстрактов из листьев 45 видов растений 21 семейства. Эти спектры подразделяются на три основных группы по расположению наиболее высоких максимумом в средневолновом, длинноволновом ультрафиолете и в видимой части оптического диапазона. Относительное содержание хлорофилла и других пигментов оценивали по коэффициенту, равному отношению оптической плотности на длине волны 664 нм и оптической плотности на длине волны наибольшего максимума. Первая группа характеризуется низким, вторая средним и третья высоким содержанием хлорофилла в зеленых листьях по сравнению с другими пигментами.

Ключевые слова: хлорофилл, пигмент, экстракт, спектрофотометрия

В процессах утилизации энергии света в зеленых листьях кроме хлорофиллов в какой-то мере участвуют также пигменты не хлорофилловой природы каротины, ксантофиллы и др. [3]. Для характеристики и анализа фотосинтетического аппарата представляет интерес относительное соотношение хлорофиллов по сравнению с другими пигментами, для определения которого широко используется абсорбционная спектроскопия спиртовых извлечений из листьев [1]. Однако фотометрические показатели экстрактов из листьев растений Приморья изучены недостаточно полно.

Цель работы – определение на основе спектрофотометрического анализа спиртовых экстрактов из зеленых листьев относительного содержания хлорофиллов по сравнению с другими хромофорами, что имеет практическое значение, например, при оценке состояния растительных ресурсов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследований использовали листья 45 видов растений из 21 семейства (см. табл.) во время цветения. При заборе материал рандомизировали двойной слепой пробой с использованием набора случайных чисел. Из каждого отобранного листа вида растения вырезали в средней трети по два квадрата 5×5 мм симметрично осевой линии. Вырезанные квадраты из трех листьев немедленно растирали в ступке с кварцевым песком и 10 мл 95% этилового спирта, добавляя углекислый магний, затем фильтровали во флаконы темного стекла. Все манипуляции выполняли в затененном помещении. Спектры регистрировали на цифровом спектрофотометре UV-2051PC (Shimadzu, Япония), нормировали по наибольшему максимуму и обрабатывали по описанной ранее авторской методике [2]. Соотношение содержания хлорофиллов и других пигментов оценивали по относительному коэффициенту $K = D(664)/D(\lambda\, max)$, где $D(664)$ – нормированная оптическая плотность на аналитической длине волны 664 нм и $D(\lambda\, max)$ – нормированная оптическая плотность на длине волны наибольшего максимума спектра поглощения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Зарегистрированные спектры поглощения экстрактов из листьев зеленых растений имеют вид многогорбых кривых с 6 – 8 максимумами разной высоты в ультрафиолетовом (УФ) и видимом диапазонах, расположение максимумов в синей, красной, а минимумов в зеленой областях согласуется с литературными данными [3]. Судя по полученным результатам, наиболее высокие максимумы (НВМ) в спектрах экстрактов из листьев разных растений попадают как в УФ, так и синий диапазон. В зависимости от длины волны НВМ зарегистрированные спектры можно подразделить на несколько групп. В первую группу включены спектры с НВМ в коротковолновой 235 – 290 нм (диапазон *A*), а во вторую – спектры с НВМ в длинноволновой 315 – 370 нм (диапазон *B* на рис.) УФ области.

Третья группа представлена спектрами с НВМ в видимой синей области 405 – 455 нм, или в диапазоне *C*. Наибольшая часть, или 42% исследованных спектров относится к первой группе, ко второй и третьей группам 35 и 23% соответственно (см. табл.). Характерным представителем 1-й группы является спектр экстракта из листьев купальницы Лидебура с НВМ на волне 267 нм, 2-й группы – спектр экстракта из листьев чабера садового, 330 нм и 3-й группы – спектр экстракта из листьев клевера ползучего, 434 нм (см. рис.).

Колдаев Владимир Михайлович, доктор биологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории лекарственных растений, kolvm42@rambler.ru

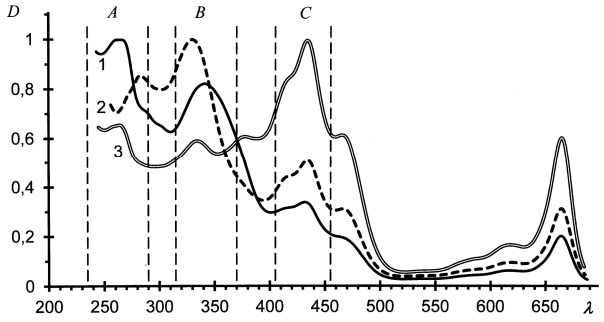

Рис. Нормированные абсорбционные спектры этанольных экстрактов из листьев купальницы Лидебура (1), чабера садового (2) и клевера ползучего (3). *A*, *B*, *C* – диапазоны длин волн наибольших максимумов. По вертикали – оптическая плотность (*D*) в относительных единицах, по горизонтали – длина волны (λ) в нм.

Таблица. Диапазон (Д, в нм) наибольших максимумов, их длина волны (λ *m*), коэффициент *K* и его репрезентативный интервал (РИ) для абсорбционных спектров извлечений из листьев разных растений

Д	Растение	Семейство	λ *m*	*K*	РИ
A (235 – 290)	Береза маньчжурская (*Betula mandshurica* Nakai)	Betulaceae	267	0,14	0,10 – 0,27
	Бобы черные (*Vicia faba* L.)	Fabaceae	266	0,13	
	Дайкон (*Raphanus sativus* Stank.)	Brassicaceae	264	0,25	
	Гречиха (*Fagopyrum esculentum* Moench)	Polygonaceae	259	0,23	
	Дицентра (*Dicentra spectabilis* Bernh.)	Fumariaceae	262	0,19	
	Душица обыкновенная (*Origanum vulgare* L.)	Lamiaceae	286	0,10	
	Жимолость Маака (*Lonicera maackii* Maxim)	Caprifoliaceae	286	0,18	
	Купальница Ледебура (*Trollius ledebourii* Rchb.)	Ranunculaceae	267	0,20	
	Лимонник китайский (*Schisandra chinensis* Baill.)	Schisandraceae	268	0,16	
	Люпин многолистный (*Lupinus polyphyllus* Lindl.)	Fabaceae	264	0,37	
	Майоран садовый (*Majorana hortensis* Moench.)	Lamiaceae	287	0,31	
	Недотрога обыкновенная (*Impatiens noli-tangere* L.)	Balsaminaceae	237	0,25	
	Недотрога Ройля (*Impatiens roylei* Walp.)	- “ -	268	0,21	
	Ревень пальчатый (*Rheum rhabarbarum* L.)	Polygonaceae	271	0,18	
	Сирень амурская (*Syringa amurensis* Rupr.)	Oleaceae	281	0,26	
	Сирень венгерская (*Syringa josikaea* J.Jacq.)	- “ -	282	0,31	
	Сирень персидская (*Syringa* ^{x}*persica* L.)	- “ -	251	0,19	
	Черемуха азиатская (*Padus asiatica* Kom.)	Rosaceae	282	0,23	
	Яблоня лесная (*Malus sylvestris* P. Mill.)	- “ -	285	0,13	
B (315 – 370)	Анис обыкновенный (*Anisum vulgare* Gaerth.)	Apiaceae	332	0,22	0,28 – 0,45
	Брокколи (*Brassica oleracea* Plenck)	Brassicaceae	331	0,31	
	Горец раскидистый (*Persicaria lapathifolium*т Gray)	Polygonaceae	342	0,24	
	Горчица сарепская (*Brassica juncea* (L.) Czern.)	Brassicaceae	341	0,38	
	Иссоп лекарственный (*Hyssopus officinalis* L.)	Lamiaceae	327	0,32	
	Крапива двудомная (*Urtica dioica* L.)	Urticaceae	331	0,42	
	Лапчатка гусиная (*Potentilla anserina* L.)	Rosaceae	329	0,39	
	Лопух большой (*Arctium lappa* L.)	Compositae	331	0,38	
	Овсяница даурская (*Festuca dahurica* Krecz.)	Poaceae	335	0,46	
	Патриния (*Patrinia scabiosifolia* Fisch. ex Link.)	Valerianaceae	337	0,54	
	Рапс «Карамбоза» (*Brassica napus* L.)	Brassicaceae	332	0,50	
	Расторопша пятнистая (*Silybum marianum* Gaertn)	Asteraceae	332	0,23	
	Тысячелистник азиатский (*Achillea asiatica* Serg.)	Compositae	330	0,23	
	Чабер садовый (*Satureja hortensis* L.)	Lamiaceae	330	0,32	
	Череда трехраздельная (*Bidens tripartite* L.)	Asteraceae	326	0,27	
	Щавель кислый (*Rumex acetosa* L.)	Polygonaceae	333	0,41	
C (405 – 455)	Галинзога (*Galinsoga parviflora* Cav.)	Compositae	434	0,58	0,46 – 0,64
	Горох посевной (*Pisum sativum* L.)	Fabaceae	434	0,59	
	Клевер ползучий (*Trifolium repen*s L.)	- “ -	434	0,61	
	Лук скорода (*Allium schoenoprasum* L.)	Alliaceae	434	0,63	
	Лук слизун (*Allium nutans* L.)	- “ -	435	0,56	
	Настурция большая (*Tropaeolum maju*s L.)	Tropaeolaceae	434	0,60	
	Пырей ползучий (*Elytrigia repens* (L.) Nevski)	Poaceae	434	0,58	
	Редька посевная (*Raphanus sativus* L.)	Brassicaceae	434	0,60	
	Фасоль обыкновенная (*Phaseolus vulgaris* L.)	Fabaceae	434	0,59	
	Цуккини (*Cucurbita pepo* L.)	Cucurbitaceae	434	0,59	

Как известно, для спектров спиртовых извлечений из зеленых листьев максимум поглощения в районе 660 – 665 нм является обобщенным признаком хлорофиллов, а его высота, или оптическая плотность отображает их суммарное содержание [1]. Наиболее высокие максимумы погло-

щения в диапазонах, характерных для спектров 1-й и 2-й групп показывают соответственно наличие и суммарное содержание не хлорофилловых пигментов листа. Отношение высот максимумов на аналитической длине волны 664 нм и на длинах волн НВМ, или коэффициент *K* дает представление о сравнительном с другими пигментами содержании хлорофиллов в листе. Полученные данные показывают, что коэффициент *K* для исследованных видов растений принимает индивидуальные значения (см. табл.).

В 1-й группе для 84,2%, т.е большинства спектров коэффициенты *K* имеют низкие значения в, так называемом, репрезентативном интервале от 0,10 до 0,27. Однако следует заметить, что для спектров экстрактов из листьев немногих (15,8%) растений значения *K* выходят за верхнюю границу указанного интервала. Так, для спектров поглощения экстрактов из листьев люпина многолистного, майорана садового и сирени венгерской *K* превышает ее в 1,15 – 1,3 раза.

Для более половины (62,5%) спектров 2-й группы коэффициент *K* принимает значения в репрезентативном интервале от 0,28 до 0,45, т.е. в среднем имеет более высокие значения по сравнению с коэффициентами для спектров 1-й группы. Но указанная тенденция выполняется не строго, для части спектров (25%), экстрактов из листьев аниса обыкновенного, горца раскидистого, расторопши пятнистой и тысячелистника азиатского *K* в 1,16 – 1,27 раза меньше нижней границы, а для спектров экстрактов из листьев патринии скабиозолистной и рапса превышает в 1,1 – 1,2 раза верхнюю границу.

Для всех спектров 3-й группы коэффициент *K* имеет наибольшие значения, в интервале 0,46 – 0,64, т .е. в среднем превосходит коэффициенты *K* первой и второй групп в 2,97 и 1,51 раза соответственно.

Таким образом, растения первой группы (*A*) характеризуются низким, второй (*B*) средним и третьей (*C*) относительно высоким содержанием хлорофиллов в зеленых листьях по сравнению с другими пигментами. Можно заметить, что коэффициент линейной корреляции между длиной волны НВМ и значениями *K* достигает 0,88 ± 0,07 ($p < 0,001$), т.е. чем короче длина волны НВМ тем меньше значения *K*, и, по-видимому, или, другими словами, меньше доля хлорофилловой фракции среди хромофоров зеленого листа.

ВЫВОДЫ

1. Абсорбционные спектры экстрактов из зеленых листьев подразделяются на три группы по положению наиболее высоких максимумов в коротковолновом, длинноволновом ультрафиолете и в синей области оптического диапазона.

2. Листья с НВМ спектров поглощения в средневолновом УФ в основном имеют низкое, в длинноволновом УФ среднее и в видимой области наибольшее относительное содержание хлорофиллов по сравнению с другими пигментами зеленого листа.

3. Отношение оптической плотности на длине волны, соответствующей красному пику хлорофилла (664 нм), к оптической плотности на длине волны НВМ в спектрах поглощения экстрактов из листьев, или коэффициент *K* может служить видовым признаком.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Гавриленко В.Ф., Жигалова Т.В.* Большой практикум по фотосинтезу. М.: Издательский центр «Академия», 2003. 256 с.
2. *Колдаев В.М.* Спектры поглощения экстрактов из лекарственных растений Приморья. М.: «Спутник+», 2013. 128 с.
3. *Хелдт Г. В.* Биохимия растений. М.: БИНОМ, 2011. 471 с.

THE VARIETY OF FORMS OF ABSORPTION SPECTRUMS OF ETHANOL EXTRACTS FROM GREEN LEAFS

© 2014 V.M. Koldaev

Mountain-taiga Station named after V.L. Komarov FEB RAS, Gornotaezhnoe, Russia

In this article we described the objective laws the correlation of content a chlorophylls and other pigments in green leafs. It is recording absorption spectrums of extracts from leaves 45 plants 21 families. This spectrum subdivides into three basic types by arrangement of greatest maximum in middle-wave, long-wave ultra-violet, visible part of optical range. We estimate the relative content of chlorophyll and other pigment by ratio optical density of length wave 664 nm and optical density of length wave of greatest maximum. The first type is characterized by low, the second type by middle and third type by the most content of chlorophyll in green leaves in comparison with other pigments.

Key words: chlorophyll, pigment, extract, spectrophotometry

Koldaev Vladimir M., Doctor of Biology, Professor, Leading research worker of Laboratory medicinal Plants, kolvm42@rambler.ru