

УДК 577.15.02

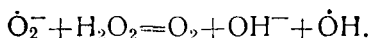
## РАЗЛОЖЕНИЕ ПЕРОКСИДА ВОДОРОДА ПОД ДЕЙСТВИЕМ ФЕРМЕНТОВ ЗЕЛЕННЫХ ЛИСТЬЕВ ДРЕВЕСНЫХ РАСТЕНИЙ

И. Я. КИСЕЛЕВ

Ленинградская лесотехническая академия

В живых клетках зеленых листьев деревьев и кустарников при участии биологических катализаторов, называемых ферментами, протекает множество химических превращений, из которых складывается обмен веществ.

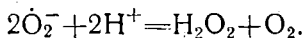
Большинство ферментов очень специфичны и катализируют только одну реакцию или один тип реакций. Например, дегидрогеназа катализирует отщепление атомов водорода от субстратов [2—5, 7]. Под действием фермента восстановленной цитохромоксидазы происходит полное четырехэлектронное восстановление  $O_2$  до  $2H_2O$ . При неполном, двух- и одноэлектронном, восстановлении  $O_2$  образуются соответственно пероксид водорода  $H_2O_2$  и супероксидный анион-радикал  $O_2^-$ . Последний может взаимодействовать с  $H_2O_2$ , выделяя более сильный окислитель, гидроксильный радикал  $\dot{O}H$ , по реакции Габера — Вейса [10]:



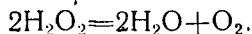
Образующийся молекулярный кислород может находиться в возбужденном (синглетном) состоянии, что делает его таким же сильным окислителем, как и гидроксильный радикал  $\dot{O}H$  [9]. Следовательно, присутствие  $H_2O_2$  и  $\dot{O}_2^-$  может приводить к возникновению токсических эффектов и повреждению живых клеток.

Например,  $H_2O_2$  и  $\dot{O}_2^-$  могут участвовать в реакциях перекисного окисления ненасыщенных жирных кислот, входящих в состав липидов мембран. Эти реакции ингибируются содержащимися в мембранах антиоксидантом  $\alpha$ -токоферолом и ферментом цитохромом. Поэтому в живых клетках должна быть высокоэффективная ферментная система защиты, которая предотвращала бы образование и накопление  $H_2O_2$  и  $\dot{O}_2^-$ . Основными компонентами такой системы являются каталаза, пероксидаза и супероксиддисмутаза [6].

Супероксиддисмутаза (активный центр этого фермента может содержать  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  или  $Mn^{2+}$ ) превращает  $\dot{O}_2^-$  в пероксид водорода и кислород по следующей реакции [6, 9]:



Железосодержащие ферменты каталаза и пероксидаза предотвращают накопление  $H_2O_2$ , разлагая ее на воду и кислород [6]:



Цель данной работы — изучение каталитической активности ферментов зеленых листьев древесных растений при воздействии на пероксид водорода. Экспериментальную часть работы проводили в течение трех сезонов 1987—1989 гг. от начала вегетационного периода и до осеннего опадения листьев.

Для опытов отбирали теневые и световые листья березы пушистой, клена остролистного и липы мелколистной различных возрастов, мест и условий произрастания.

Исследования выполняли на газоволюмометрической установке, в электролитическую ячейку которой помещали 100 мг мелконарезанной массы листа влажностью 75... 80 % и 20 мл 15 %-го водного раствора  $H_2O_2$  [8].

Продолжительность опыта составляла 1 ч при постоянном перемешивании раствора. Каталитическую активность ферментов при разложении  $H_2O_2$  оценивали объемом выделившегося с поверхности поперечного разреза частиц листовой пластинки кислорода, приведенного к нормальным условиям. При обработке экспериментальных данных использовали метод наименьших квадратов [1].

Интенсивное разложение  $H_2O_2$  под действием ферментов наблюдали в начале опыта, затем выделение  $O_2$  постепенно замедлялось (рис. 1). Максимальный объем выделившегося  $O_2$  в опытах с листьями березы, клена и липы составил соответственно 40,0; 37,3; 35,2 мл. Длительное воздействие пероксида водорода приводит к пожелтению листьев и прекращению выделения кислорода. Установлено, что ферменты зеленых листьев березы, клена и липы обладают высокой каталитической активностью в течение всего сезона.

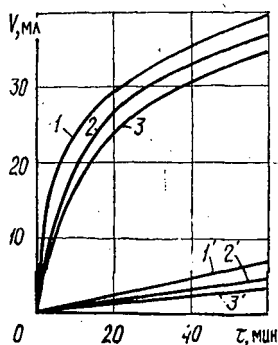


Рис. 1. Кинетические кривые выделения кислорода при разложении  $H_2O_2$  под действием ферментов зеленых (кривые 1, 2, 3) и пожелтевших (кривые 1', 2', 3') листьев березы (1, 1'), клена (2, 2'), липы (3, 3')

Осенью с изменением окраски листьев и при температуре менее  $10^\circ C$  происходит понижение каталитической активности их ферментов. Максимальный объем кислорода, выделившегося в опытах с опавшими листьями березы, клена и липы, составил соответственно 6,75; 5,0; 4,5 мл. Следовательно, к периоду осеннего листопада эффективность действия ферментной системы защиты понижается в 6—8 раз. Это, прежде всего, можно объяснить количественными изменениями ферментов, связанными с их оттоком из листьев в кору побегов и ветвей дерева.

Также изучали воздействие температуры на каталитическую активность ферментов. Термическую обработку навесок зеленых листьев проводили в течение 2 ч при температурах до  $100^\circ C$  как в воздушной, так и в водной средах.

С повышением температуры обработки наблюдали уменьшение объема кислорода, выделившегося в течение 1 ч при разложении  $H_2O_2$  (рис. 2). При температуре  $70^\circ C$  выявлена полная потеря каталитической активности ферментов зеленых листьев березы, клена и липы и прекращение разложения  $H_2O_2$  с выделением  $O_2$ .

Хранение в лабораторных условиях воздушно-сухих (влажность 10... 12 %) навесок зеленых листьев в течение 12 месяцев незначительно понижает каталитическую активность ферментов.

Экспериментально доказано, что после воздействия низких температур (до  $-30^\circ C$ ) в зимний период ферменты, находящиеся в коре побегов и ветвей дерева, сохраняют свою каталитическую активность.

Итак, наличие в живых клетках зеленых листьев древесных растений высокоэффективной ферментной системы защиты от воздействия

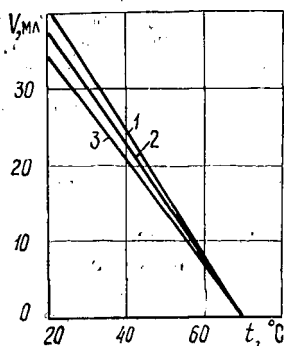


Рис. 2. Зависимость объема выделившегося кислорода от температуры при разложении  $H_2O_2$  под действием ферментов зеленых листьев березы (1), клена (2), липы (3)

$H_2O_2$  свидетельствует о том, что пероксид водорода может образовываться в процессе обмена веществ.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1]. Батунер Л. М., Позин М. Е. Математические методы в химической технике.—Л.: Химия, 1971.—824 с. [2]. Говинджи. Фотосинтез: В 2 т. / Пер. с англ. под ред. А. А. Красновского, Ф. Ф. Литвина.—М.: Мир.—Т. 1.—1987.—727 с.; Т. 2.—1987.—470 с. [3]. Де Дюв, К. Путешествие в мир живой клетки / Пер. с англ.—М.: Мир, 1987.—256 с. [4]. Крамер П. Д., Козловский Т. Т. Физиология древесных растений: Пер. с англ.—М.: Лесн. пром-сть, 1983.—464 с. [5]. Ленинджер А. Биохимия. Молекулярные основы структуры и функций клеток / Пер. с англ. под ред. А. А. Баева, Я. М. Варшавского.—М.: Мир, 1974.—956 с. [6]. Прайор У. Свободные радикалы в биологии: Пер. с англ. под ред. Н. М. Эмануэля.—М.: Мир, 1979.—Т. 1.—318 с. [7]. Тарабрин А. Д. Как живет дерево.—М.: Лесн. пром-сть, 1974.—141 с. [8]. Шамб У., Сеттерфилд Ч., Вентворе Р. Перекись водорода.—М.: Изд-во иностр. лит., 1958.—578 с. [9]. Fridovich J. Superoxide dismutases defence against endogenous superoxide radical. Oxygen free radicals and tissue damage.—Amsterdam: Excerpta, Medica, 1979.—P. 77. [10]. Halliwell B., Gutteridge J. M. C. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease // Biochem. J.—1984.—219, N 1.—P. 1.

Поступила 2 июля 1990 г.

УДК [547.597.1 : 51] : 541.11

### ПРИМЕНЕНИЕ ПОЛУЭМПИРИЧЕСКИХ АДДИТИВНЫХ МЕТОДОВ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТЕРМОДИНАМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КАРЕНОВ

А. И. ЛАМОТКИН, И. В. МАМОНЕНКО, И. Л. ШУЛЬГИН

Белорусский технологический институт

В природе существуют четыре изомерные формы каренов, различающиеся положением двойной связи: 2-карен (3, 7, 7-триметилбицикло [4, 1, 0] гепт-2-ен); 3-карен (3, 7, 7-триметилбицикло [4, 1, 0] гепт-3-ен); 4-карен (4, 7, 7-триметилбицикло [4, 1, 0] гепт-2-ен);  $\beta$ -карен (3-метил-7,7-диметилбицикло [4, 1, 0] гептан).

С термодинамической точки зрения они относятся к малоизученным соединениям. Высокая реакционная способность каренов к окислению, изомеризации и полимеризации, а также малодоступность 4- и  $\beta$ -каренов существенно ограничивают возможности изучения термодинамических свойств рассматриваемых соединений экспериментальными методами. В настоящее время, для установления термодинамических