

Ćw. Wpływ kwaśnych deszczy na roślinność

Zielone technologie i monitoring

Barwniki asymilacyjne

Barwnikami nazywamy związki chemiczne, które odbijają pewien zakres fal światła widzialnego, co sprawia, że są one barwne. Kwiaty, koralowce czy nawet skóry zwierząt zawierają pigmenty, które nadają im barwę. Ale dużo ważniejsza od odbijania światła jest zdolność barwników do jego **adsorpcji**.

Z uwagi na to, iż barwniki oddziałują tylko ze światłem o pewnym zakresie długości fal, są one szczególnie ważne dla organizmów autotroficznych (samożywnych), które same produkują sobie pokarm w wyniku fotosyntezy. Dotyczy to głównie roślin, glonów i sinic, które dzięki pigmentom mogą wykorzystywać energię światła słonecznego. Ponieważ każdy pigment oddziałuje z pewnym charakterystycznym dla niego zakresem światła, to organizmy zwykle produkują kilka rodzajów barwników, aby przechwycić więcej energii słonecznej.

Wyróżniamy trzy główne grupy barwników asymilacyjnych:

- **Chlorofile** to zielonkawe barwniki zawierające pierścień porfirynowy. Elektrony dookoła tego pierścienia mogą swobodnie migrować, dzięki czemu cząsteczki chlorofilu mogą łatwo oddać lub przyjąć elektron. Zdolność do przekazywania wzbudzonych elektronów innym cząsteczkom pozwala na przechwytywanie energii słonecznej i kierowanie ją do cyklu fotosyntetycznego. W związku z tym, nazywane są podstawowymi barwnikami asymilacyjnymi.
- **Karotenoidy** to zwykle czerwone, pomarańczowe lub żółte pigmenty, do których należy m.in. karoten nadający barwę korzeniowi marchewki. Karotenoidy zbudowane są z dwóch pierścieni cyklohexylowych połączonych długim łańcuchem węglowym. W wyniku takiej budowy nie rozpuszczają się w wodzie i są połączone z membranami w komórce. Karotenoidy same w sobie nie mają zdolności do przenoszenia energii słonecznej bezpośrednio do cyklu fotosyntetycznego, wobec czego przekazują ją chlorofilom. Z tego powodu karotenoidy są nazywane wspomagającymi barwnikami asymilacyjnymi. Barwa karotenoidów w liściach jest maskowana przez obecność chlorofilu. Ujawnia się dopiero jesienią, gdy rozpoczyna się degradacja chlorofilu przez enzymy. Jednym z pigmentów wspomagających jest fukoksantyna, która nadaje brązowy kolor wodorostom morskim, okrzemkom i brązowym algom.

- **Fikobiliny** to łatwo rozpuszczalne w wodzie barwniki, które występują jedynie w cytoplazmie albo stromie chloroplastów sinic (*Cyanobacteria*) i krasnorostów (*Rhodophyta*). Niebieskawy barwnik odpowiedzialny za barwę i nazwę sinic to fikocyjanina. Z kolei czerwony barwnik odpowiedzialny za barwę i nazwę krasnorostów to fikoerytryna (Rys. 1).



Rys. 1. Fikocyjanina i fikoerytryna

Fikobiliny oprócz fotosyntezy znalazły także zastosowanie w medycynie. Zarówno fikocyjanina jak i fikoerytryna charakteryzują się zdolnością do fluorescencji. Oznacza to, że podczas ekspozycji na silne światło absorbują jego energię, a następnie emitują charakterystyczne światło o bardzo wąskim zakresie długości fal. Dzięki temu barwniki te znalazły zastosowanie jako chemiczne markery komórek nowotworowych. Pigmenty wiążą się chemicznie z przeciwciałami i wprowadza do roztworu komórek. Następnie taką mieszaninę natryskuje się w kierunku lasera i czujnika komputerowego, który identyfikuje komórki oznaczone przez przeciwciała.

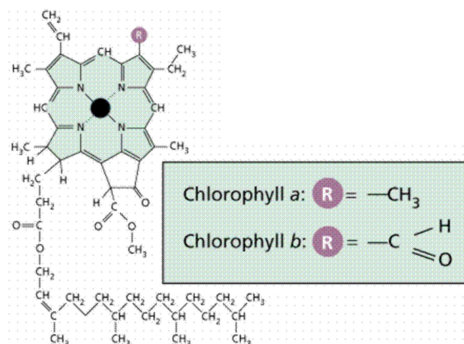
CHLOROFIL

Terminem chlorofil nazywa się grupę kilku zielonkawych barwników asymilacyjnych występujących w roślinach, glonach i sinicach. Barwniki te należą do grupy porfiryn i wspólnie z karotenoidami i fikobilinami biorą udział w absorpcji i konwersji energii świetlnej w energię chemiczną niezbędną w procesach fotosyntezy.

Chlorofile są hydrofobowe i słabo rozpuszczalne w wodzie, za to dobrze rozpuszczalne w olejach i rozpuszczalnikach organicznych. Cząsteczki chlorofilu mają hydrofobowy „ogon” (Rys. 2), który wykazuje powinowactwo do membrany tylakoidów. „Głowę” chlorofilu, odpowiedzialną za adsorpcję energii świetlnej, stanowi pierścień porfirynowy, w którego centrum znajduje się atom magnezu.

Wyróżniamy kilka rodzajów chlorofilu, które oznacza się symbolami *a*, *b*, *c*, *d* i *f*. Podstawowy i najpowszechniejszy rodzaj chlorofilu to chlorofil *a* ($C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$). Występuje on we wszystkich roślinach, glonach i sinicach, które posiadają zdolność do prowadzenia fotosyntezy. Drugi rodzaj chlorofilu to chlorofil *b* ($C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$), obecny

tylko w zielonych algach i sinicach. Podstawową różnicą pomiędzy tymi dwoma rodzajami chlorofilu jest obecność grupy aldehydowej w chlorofilu *b*, w miejscu, gdzie w cząsteczce chlorofilu *a* występuje grupa metylowa (Rys. 1). Z kolei chlorofil *c* występuje jedynie w fotosyntezujących przedstawicielach grzybobływek (*Chromista*) i wiciowców.



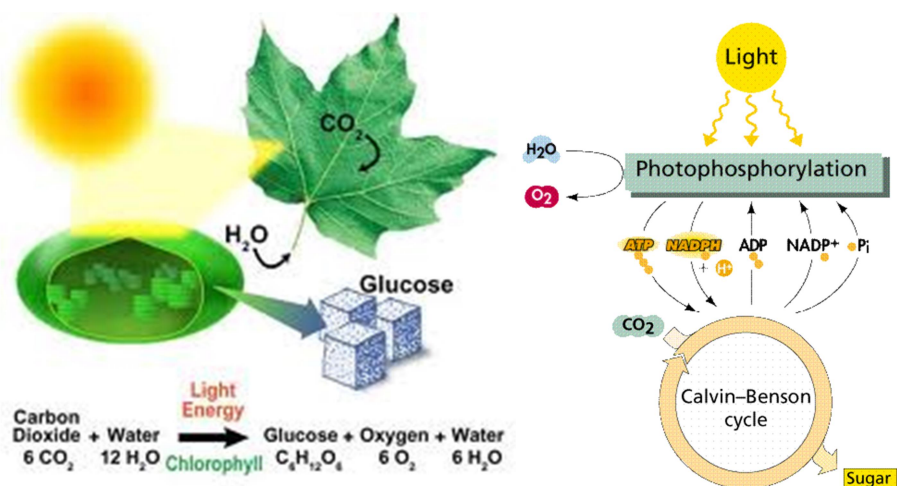
Rys.2. Struktura cząsteczkowa chlorofilu *a* i *b*

FOTOSYNTeza

Organizmy żywe nie są w stanie bezpośrednio wykorzystywać energii słonecznej, ale mogą ją konwertować w energię wiązań C-C na drodze serii skomplikowanych reakcji zwanych fotosyntezą. Fotosynteza jest procesem dwuetapowym. W pierwszym etapie niezbędna jest obecność światła, dlatego jest on nazywany **fazą jasną**. Energia świetlna powoduje wzbudzenie elektronów chlorofilu *a*. Następnie energia wzbudzonych elektronów zostaje przechwycona przez nośniki energii - cząsteczki ATP (adenozynotrójfosforan) i NADPH (zredukowana forma estru fosforanowego dinukleotydu) (Rys. 3). W tym procesie następuje rozkład wody, w wyniku którego jako uboczny produkt reakcji wydzielą się tlen. Faza jasna ma miejsce w granie chloroplastów.

Drugi etap fotosyntezy nie wymaga obecności światła i jest nazywany **fazą ciemną** (Rys. 3). W tej fazie następuje przekształcenie produktów reakcji fazy jasnej w związania chemiczne C-C cukrów. Wbudowywanie ditlenku węgla (CO₂) w związki organiczne nazywa się asymilacją węgla. Ditlenek węgla dostaje się do komórek jednokomórkowych i wodnych autotrofów wskutek dyfuzji, a do komórek roślin lądowych przez aparaty szparkowe (które zapobiegają wysuszeniu rośliny). W fazie ciemnej węgiel jest wychwytywany i modyfikowany przez dodanie wodoru, z wytworzeniem węglowodanów. Energia potrzebna do tego procesu pochodzi z fazy jasnej (z nośników energii – ATP i NASDPH). Reakcje zachodzą w stromie chloroplastów. Energia wiązania C-C może być przechowywana i ostatecznie uwalniana przez glikolizę lub inne procesy metabolicznych.

Reakcje fazy ciemnej mogą zachodzić w ciemności, gdy obecne są nośniki energii z fazy jasnej. Jednak najnowsze dane wskazują, że główny enzym fazy ciemnej jest pośrednio stymulowany przez światło, a więc termin faza ciemna jest nieco mylący.



Rys. 3. Poglądowy schemat dwóch faz procesu fotosyntezy

KWAŚNE DESZCZE

Kwaśne deszcze powodują szereg negatywnych konsekwencji dla ekosystemów leśnych. Nie tylko zakwaszają glebę ale także zaburzają wzrost roślin poprzez bezpośredni wpływ na ich zielone części oraz system korzeniowy. Krople kwaśnego deszczu spadając na liście lub igły powodują pewnego rodzaju "poparzenia" (plamy). Niszcząc kutikulę liści (epidermę) wnikają do środka i powodują uszkodzenia błon komórkowych i układu enzymatycznego oraz zmiany w organellach (struktury komórkowe roślin). W dalszym etapie prowadzą do zachwiania równowagi w funkcjonowaniu komórek, **zmniejszenia zawartości chlorofilu** niezbędnego do przeprowadzania fotosyntezy, wywołują chlorozę (np. żółknięcie liści) i nekrozę (martwicę). W zależności od zawartości kwaśnych składników w opadzie atmosferycznym można wyróżnić trzy następujące rodzaje zmian w aktywności fotosyntetycznej roślin:

- **wzrost aktywności biologicznej** – reakcja obronna, obserwowana w obecności opadów o małej zawartości kwasów lub w początkowych etapach ekspozycji na opady silnie kwaśne;
- **odwracalny spadek aktywności biologicznej** – obserwowany u roślin poddanych periodycznej ekspozycji na wysoce kwaśne opady; tempo i skala odwracalności zależą od wrażliwości rośliny, czasu ekspozycji i pH opadu;
- **nieodwracalny zanik (atrofia) aktywności biologicznej** – wywołany przez opady, które zawierają kwasy w ilościach powodujących nekrozę roślin.

Spadek asymilacji węgla obserwuje się przy martwicy obejmującej ponad 5-20% powierzchni liści. Prowadzi to do zahamowania rozwoju rośliny, zmniejszenia przyrostu masy drewna, zmniejszenia odporności na czynniki środowiskowe, np. ekstremalne zjawiska pogodowe (susze, powodzie, mrozy, huragany itp.), owady, mikroorganizmy itd. Ponadto, kwaśne deszcze powodują wymywanie wapnia, magnezu i potasu z gleby (ograniczenie składników odżywczych dostępnych dla roślin) oraz zwiększają migrację glinu i metali ciężkich (ekspozycja roślin na substancje toksyczne, powoli uwalniane z gleby).

Stwierdzono, że największy udział (73%) w powstawaniu kwaśnych opadów w lecie ma kwas siarkowy (H_2SO_4). W zimie w opadach dominuje kwas azotowy (HNO_3), z powodu zwiększonego spalania paliw w tym okresie, a co za tym idzie zwiększonej emisji tlenków azotu (NO_x).

Literatura

Kubiak J., Tchórz A., Nędzarek A., Analityczne podstawy hydrochemii, Wydawnictwo Akademii Rolniczej, Szczecin 1999.

Wachowski L., Kirszensztejn P., Ćwiczenia z podstaw chemii środowiska, Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań 1999.

Purves W.K., Orians G.H., Heller H. C.R, Life: The Science of Biology 4th Edition, Sinauer Associates Inc, 1994.

<http://www3.epa.gov/acidrain/effects/forests.html>

<http://www.ucmp.berkeley.edu/glossary/gloss3/pigments.html>

INSTRUKCJA STANOWISKOWA

Przygotowanie próbek roślinności i ekspozycja na symulowane warunki kwaśnych opadów

Odważyć po około 2 g próbek liści lub igieł w trzech egzemplarzach. Zanotować masy próbek. Umieścić próbki w krystalizatorze, opisać nazwą grupy oraz następującymi warunkami eksperymentu: H₂O (próba odniesienia), 1% H₂SO₄ lub 5% H₂SO₄. Umieścić krystalizatory w odpowiednim eksykatorze, odpowiednio: H₂O, 1% H₂SO₄ lub 5% H₂SO₄.

Przygotowanie próbek do oznaczenia zawartości chlorofilu *a*

Po tygodniu przetrzymywania próbek w symulowanych warunkach kwaśnych opadów lub w warunkach referencyjnych (H₂O) przygotować próbki do oznaczenia chlorofilu *a*. Wyjąć próbkę z eksykatora, osuszyć ręcznikiem papierowym (jeśli zachodzi potrzeba) i umieścić w porcelanowym moździerzu. Dodać 10 mL wody destylowanej i utrzeć na jednolitą papkę. Przenieść papkę ilościowo do zakręcanej fiołki i dodać 15 mL roztworu ekstrakcyjnego (MgCO₃ w acetonie) (przemyć moździerz 3 x 5 mL roztworu). Zamknąć fiołkę korkiem i wytrząsać przez 5 minut. Następnie szybko zdekantować ekstrakt, przesączyć przez miękki sączek, zebrać do kolby stożkowej (100 mL) i zamknąć kolbę korkiem.

Oznaczenie chlorofilu *a* w ekstrakcie

Ustawić długość fali na spektrofotometrze VarianCary (p. 312) na 664 nm. Wyzerować spektrofotometr na aceton. Przenieść 3 mL ekstraktu do kuwety kwarcowej (1 cm) za pomocą pipety automatycznej. Kilukrotnie zmierzyć absorbancję ekstraktu. Zmienić długość fali na 665 nm. Wyzerować spektrofotometr na aceton. Do tej samej kuwety z 3 mL ekstrakty dodać 0,1 mL HCl (0,1N). Kilukrotnie zmierzyć absorbancję zakwaszonego ekstraktu. Obliczyć zawartość chlorofilu *a* [μg/L] w ekstrakcie korzystając ze wzoru:

$$X = \frac{26,7(664_a - 665_b) \cdot V_1}{V_2 L}$$

gdzie:

V_1 - objętość ekstraktu użyta do oznaczenia, dm³

V_2 - objętość próbki użyta do filtracji, m³

L - szerokość kuwety, cm

664_a - absorbancja ekstraktu przy długości fali 664 nm

665_b - absorbancja zakwaszonego ekstraktu przy długości fali 665 nm

Raport

Wstęp teoretyczny dotyczący negatywnych skutków kwaśnych deszczy na roślinność (z referencjami), wyniki i obliczenia, opis wizualnego porównania próbek roślinnych po ekspozycji na symulowane warunki kwaśnych opadów, przeliczenie ilości chlorofilu *a* na masę próbki (g), % spadek ilości chlorofilu w próbkach i porównanie z próbą odniesienia, dyskusja wyników i wnioski.