

УДК 378.091.147:535.243(476.6)

**ПРИМЕНЕНИЕ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДОВ  
ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ ИЗУЧЕНИИ ФИЗИОЛОГИИ И  
БИОХИМИИ РАСТЕНИЙ**

**С. А. Тарасенко, Е. И. Дорошкевич**

УО «Гродненский государственный аграрный университет»

(Республика Беларусь, 230008, г. Гродно, ул. Терешковой, 28; e-mail:  
ggau@ggau.by)

Аннотация. При изучении курса физиология и биохимия растений студентами агрономического факультета в разделе фотосинтез используются спектрофотометрические методы определения содержания основных фотосинтетических пигментов – хлорофиллов и каротиноидов. Это позволяет применить компетентностный подход к изучению продукционного процесса сельскохозяйственных растений.

Ключевые слова: спектрофотометрия, хлорофиллы, каротиноиды, продукционный процесс, хлорофилловый индекс.

**SPECTROPHOTOMETRIC RESEARCH METHODS  
APPLICATION IN THE STUDY OF PHYSIOLOGY AND PLANT  
BIOCHEMISTRY**

**S. A. Tarasenko, E. I. Darashkevich**

Grodno State Agrarian University

(Belarus, 230008, Grodno, Tereshkova Str., 28; e-mail: ggau@ggau.by)

Summary. When studying the course of physiology and biochemistry of plants, students of the Faculty of Agronomy in the photosynthesis section use spectrophotometric methods to determine the content of the main photosynthetic pigments - chlorophylls and carotenoids. This allows them to apply a competency-based approach to the study of the production process of agricultural plants.

Keywords: spectrophotometry, chlorophyll, carotenoid, production process, chlorophyll index.

В Учреждении образования «Гродненский государственный аграрный университет» современный образовательный процесс студентов агрономического факультета тесно связан с использованием новейших методов исследования функционирования растений в условиях агроценоза. Большие возможности в данном направлении открывает применение метода спектрофотометрии, который позволяет установить изменение количественного и качественного состава

органических и неорганических соединений в растениях как в динамике развития продукционного процесса, так и под влиянием факторов внешней среды. Это позволяет применить компетентностный подход к изучению продукционного процесса сельскохозяйственных растений.

Спектрофотометрия (абсорбционная) — физико-химический метод исследования растворов и твёрдых веществ, основанный на изучении спектров поглощения в ультрафиолетовой (200—400 нм), видимой (400—760 нм) и инфракрасной (>760 нм) областях спектра. Основная зависимость, изучаемая в спектрофотометрии, — зависимость интенсивности поглощения (как правило, измеряется оптическая плотность - логарифм светопропускания, т.к. она зависит линейно от концентрации вещества) падающего света от длины волны.

При изучении курса физиологии и биохимии растений (раздел фотосинтез) в УО «ГТАУ» применяются спектрофотометры СФ-56 и СФ-2000. Они позволяют установить концентрацию в растениях важнейших фотосинтетических пигментов — хлорофиллов и каротиноидов, изучить динамику этих веществ в течение вегетации и под воздействием факторов внешней среды.

Расчет концентрации основывается на оптической плотности растворов и производится по формулам [1]:

Спектрофотометрический анализ — наиболее точный количественный метод определения содержания пигментов листа. В отличие от фотоэлектроколориметра спектрофотометр позволяет выполнять анализ смесей веществ с близкими максимумами поглощения, что достигается за счет использования монохроматора, вследствие чего удается установить содержание хлорофиллов и каротиноидов в вытяжке без их предварительного разделения. Оптическая плотность экстракта на спектрофотометре измеряют при длинах волн, соответствующих максимумам поглощения хлорофиллов  $a$  и  $b$  в красной области спектра и при длине волны абсорбционного максимума каротиноидов. При этом учитывают, что положение максимума поглощения несколько меняется в зависимости от используемого растворителя.

Содержание пигментов (для 96%-го раствора этанола) рассчитывают по уравнениям:

$$\text{Схл.}a = 13,70 \cdot D_{665} - 5,76 \cdot D_{649};$$

$$\text{Схл.}b = 25,80 \cdot D_{649} - 7,60 \cdot D_{665};$$

$$\text{Схл.}a + \text{хл.}b = 6,10 \cdot D_{665} + 20,04 \cdot D_{649};$$

$$\text{или } \text{Схл.}a + \text{хл.}b = 25,1 \cdot D_{654};$$

Если в качестве растворителя при получении вытяжки пигментов используются другие растворы, то уравнения принимают следующий вид:

для 100%-го ацетона (по Хольму-Веттштейну):

$$\begin{aligned} \text{Схл.}a &= 9,784 \cdot D662 - 0,990 \cdot D644; \\ \text{Схл.}b &= 21,426 \cdot D644 - 4,650 \cdot D662; \\ \text{Схл.}a + \text{хл.}b &= 5,134 \cdot D662 + 20,436 \cdot D644; \\ \text{Скар.} &= 4,695 \cdot D440,5 - 0,268 \cdot \text{Схл.}a + \text{хл.}b; \end{aligned}$$

для 85%-го раствора ацетона (по Реббелену):

$$\begin{aligned} \text{Схл.}a &= 10,3 \cdot D663 - 0,918 \cdot D644; \\ \text{Схл.}b &= 19,7 \cdot D644 - 3,87 \cdot D663; \\ \text{Схл.}a + \text{хл.}b &= 6,4 \cdot D663 + 18,8 \cdot D644; \\ \text{Скар.} &= 4,75 \cdot D452,5 - 0,226 \cdot \text{Схл.}a + \text{хл.}b; \end{aligned}$$

где: Схл.*a*, Схл.*b*, Схл.*a*+хл.*b* и Скар. – соответственно концентрации хлорофиллов *a*, *b*, их суммы и каротиноидов, мг/л;

D - экспериментально полученные величины оптической плотности при соответствующих длинах волн.

Полученные данные по концентрации фотосинтетических пигментов в мг/л позволяют рассчитать их содержание в растениях в процентах в сухом веществе с предварительным определением содержания сухого вещества [2], а также установить такой важнейший показатель продукционного процесса как хлорофилловый индекс [3, 4].

В целом подробное изучение изменений пигментного состава позволяет студентам освоить основные закономерности продукционного процесса сельскохозяйственных растений и возможности его активизации путем применения агротехнических средств и агрохимикатов с целью повышения урожайности культур и качества получаемой продукции.

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Тарасенко, С.А. Физиология и биохимия растений. Лабораторный практикум : учебное пособие / С.А. Тарасенко, Е.И. Дорошкевич. – Минск : ИВЦ Минфина, 2017. – 196 с.
2. Ламан, Н.А. Биолого-экологические основы формирования высокопродуктивных пензов хлебных злаков: технологические аспекты / Н.А. Ламан, В.Н. Прохоров // Вес. Акад. аграр. навукРэсп. Беларусь. – 1999. – № 2. – С. 32-39.
3. Тарасенко, С.А. Хлорофилловый индекс – важнейший показатель продукционного процесса сельскохозяйственных культур / С.А. Тарасенко // Материалы конференции «Современные технологии сельскохозяйственного производства» Ч.1: XVмеждунар. научно-практ. конф. / Учреждение образования «Гродненский государственный аграрный университет». – Гродно, 2012. – С. 110-112.