

STUDIUM ZMĚN JEHLIČÍ SMRKU ZTEPILÉHO PŘI OZÁŘENÍ SLUNEČNÍM SIMULÁTOREM POMOCÍ RAMANOVY SPEKTROMETRIE A OPTICKÉ MIKROSKOPIE

Helena Tokárová

Ústav analytické chemie, Fakulta chemicko-inženýrská, VŠCHT Praha,

Technické 5, 166 28 Praha 6.

E-mail: helena.tokarova@vscht.cz

Úvod

Smrk ztepilý je ve střední Evropě celoplošně rozšířeným jehličnanem, a je proto vhodný pro monitoring životního prostředí. Důležitou roli v jeho fyziologii hraje jehličí, ve kterém probíhá fotosyntéza a dýchání. Jehlici před vzdušnými polutanty chrání kutikula. Spojení jehlice s okolní atmosférou zprostředkovávají stomata krytá strukturou tzv. vosků. Ramanova spektrometrie s excitací při 1064 nm dovoluje studovat změny jehličí bez jeho úpravy^{1,2} a současně potlačit fluorescenci a nežádoucí fotochemické reakce^{3,4}. Studiu Ramanových spekter byla věnována řada prací zaměřených na porovnání jehličí smrku ztepilého různých lokalit, různého stáří⁵ či na sledování faktorů, které Ramanova spektra jehličí výrazně ovlivňují^{6,7}.

Aktuálním cílem je vytvořit v naší laboratoři definované experimentální podmínky pro růst semenáčků smrku ztepilého (výživa, teplota, sluneční záření), za kterých budou studovány pomocí Ramanovy spektrometrie a optické mikroskopie. V této práci bylo testováno nové zařízení simulující sluneční záření. Byl studován vliv doby ozařování a teploty vyvinuté při ozáření jehlice na její Ramanovo spektrum a mikroskopický obraz stomat.

Experimentální část

Experiment s jehlicí smrku ztepilého

Z důvodu možného poškození semenáčků smrku ztepilého byly při testování slunečního simulátoru ozařovány samostatné jehlice odebírané z dospělého smrku vždy bezprostředně před provedením experimentu, a to z nejmladšího (letošního) výhonu

různých větví. Jehlice byly jednotlivě ozařovány 5, poté 10 a 15 min (celkem 30 min) slunečním simulátorem Oriol Instruments (USA) model 91193. Tento přístroj je opatřen xenonovou výbojkou o výkonu 300W a dvěma optickými filtry Air Mass 0 (AM0) a Air Mass 1 Direct (AM1D). Je tak simulováno sluneční záření na povrchu země po průchodu atmosférou pokud je slunce přímo nad pozorovaným místem⁸. Jehlice byla umístěna na pracovní ploše slunečního simulátoru (35 cm od zdroje záření) a v její bezprostřední blízkosti (ca. 2 mm) byl umístěn teplotní senzor GTF300 připojený k měřicímu přístroji GMH 3350 (Greisinger electronic, SRN). Časová závislost teploty byla zaznamenávána pomocí programu EBS9M – recorder (Greisinger electronic). Před a po ozáření byly získány mikroskopické snímky několika stomat na ozařovaném povrchu jehlice pro tři různá zvětšení a bylo naměřeno její Ramanovo spektrum. Mikroskopické fotografie povrchu jehlice smrku ztepilého byly pořízeny optickým mikroskopem Optiphot 2 (Nikon) s použitím objektivu se zvětšením 10x, 20x a 100x. Fotografie byly snímány barevnou CCD kamerou (Sony, Japonsko) a ukládány pomocí softwaru TVIEW98. Ramanova spektra byla získávána užitím Ramanova spektrometru s Fourierovou transformací Equinox 55/S s modulem FRA 106/S (Bruker, SRN), s germaniovým detektorem chlazeným kapalným dusíkem a s excitací paprskem Nd:YAG laseru o výkonu 50 mW (Coherent, USA). Spektrum v rozsahu 400 cm⁻¹ až 4000 cm⁻¹ bylo získáno akumulací 1024 skenů s rozlišením 4 cm⁻¹.

Experiment s roztokem β -karotenu

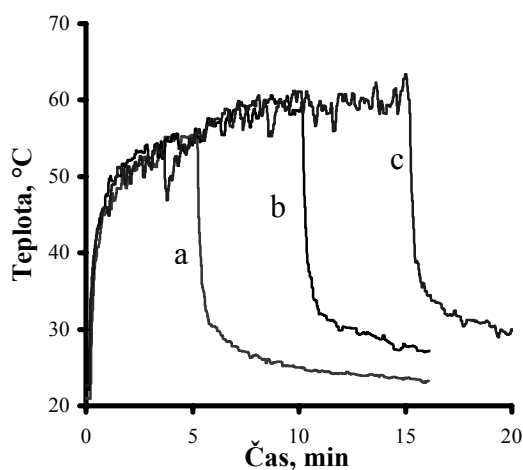
Ethanolový roztok β -karotenu (0,064 mg/ml) byl připraven z trans- β -karotenu (Fluka) a 95% ethanolu pod atmosférou dusíku a byl ozařován ve stejném režimu jako jehlice smrku ztepilého (5, 10 a 15 min) slunečním simulátorem. Před a po ozáření byla měřena UV-VIS spektra na UV-VIS spektrometru Cary 50 (Varian, USA) v kyvetě o tloušťce 1 cm s teflonovým uzávěrem.

Výsledky a diskuse

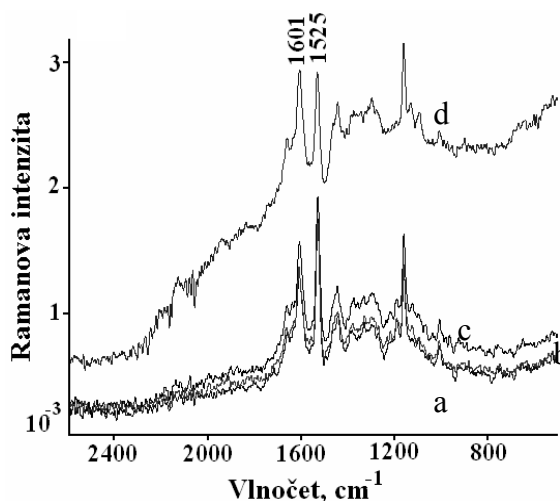
Experiment s jehlicí smrku ztepilého

S expozicí jehlice zářením slunečního simulátoru roste teplota, které je jehlice při ozáření vystavena. Po 15 min ozařování dosahuje teplota až 60°C (Obr. 1). Tento nárůst teploty se v Ramanově spektru projevuje zvedající základní linií Ramanova

spektra a snižováním intenzity pásu 1525 cm^{-1} (obr. 2). Pás 1525 cm^{-1} je charakteristický pro karotenoidy, protože odpovídá vibraci konjugovaného řetězce dvojných vazeb. Změny intenzity pásu 1525 cm^{-1} byly vztaženy na intenzitu pásu 1601 cm^{-1} , který je stálý a odpovídá valenčním vibracím aromatického jádra ve fenolických látkách a v chlorofylu.

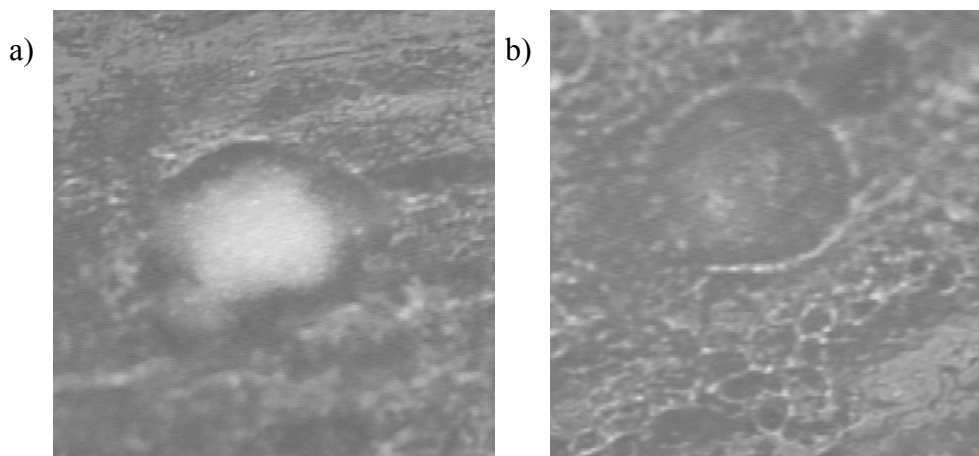


Obr. 1: Průběh teplot při ozařování jehlice 5 min (a), 10 min (b) a 15 min (c).



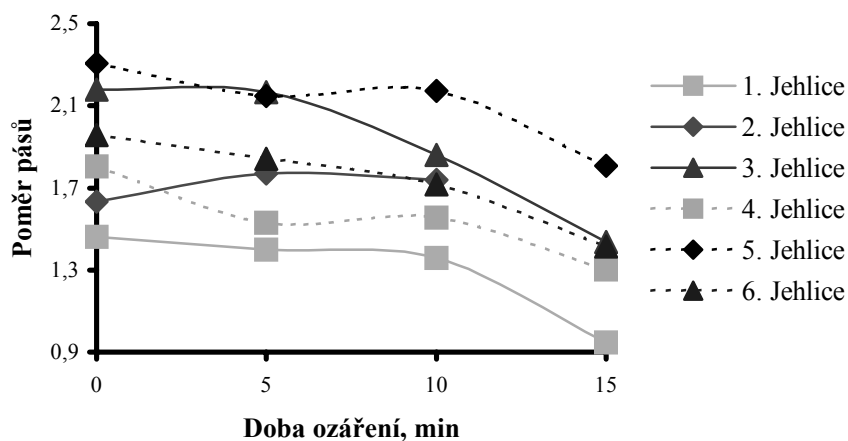
Obr. 2: Ramanova spektra jehlice čerstvé (a), po 5 min (b), celkově po 15 min (c) a po 30 min ozařování (d).

Na fotografiích jehlic (obr. 3) je patrné, že vlivem vysokých teplot při ozařování ztrácí stomatální vosky na jejím povrchu svou typickou strukturu. Jehlice se vysouší a žloutne.



Obr. 3: Stoma před (a) a po 30 min (b) ozařování (60°C).

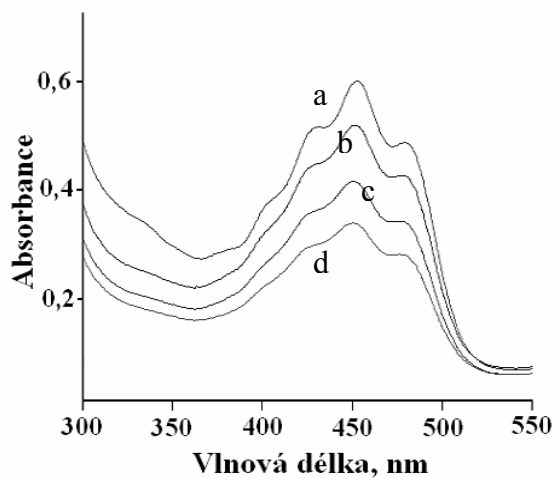
Intenzity pásů 1601 cm^{-1} a 1525 cm^{-1} jsou korigovány na základní linii v bodech 1767 cm^{-1} a 773 cm^{-1} pomocí programu OMNIC Macrobasic (Nicolet). Bylo měřeno šest různých jehlic, z nichž polovina byla během ozařování zavlažována obalením části jehlice vatou napuštěnou vodou (obr. 4).



Obr. 4: Závislost poměru pásů 1601 cm^{-1} a 1525 cm^{-1} na době ozáření jehlice (jehlice 1-3 nezavlažované, jehlice 4-6 zavlažované).

Experiment s roztokem β -karotenu

Pro ověření vlivu ozáření slunečním simulátorem a dosahovaných teplot na karotenoidy byl proveden pokus s ozařováním ethanolového roztoku β -karotenu. S expozicí zářením β -karotenu klesala absorbance všech pozorovaných pásů UV-VIS spektra (obr. 5).



Obr. 5: Pokles absorbance v UV-VIS spektra β -karotenu (a) po 5 min (b), celkově po 15 min (c) a po 30 min ozařování (d) slunečním simulátorem.

Pro porovnání byl stejný roztok měřen v tomtéž časovém intervalu, ale bez ozařování. Při měření UV-VIS spekter neozařovaného roztoku se s časem absorbance spektra neměnila.

Závěr

Z výsledků měření je patrné, že ozařování a dosahované teploty mění morfologii stomatálních vosků i Ramanovo spektrum jehlice. Změny se projevují růstem intenzity základní linie Ramanova spektra a poklesem intenzity pásu karotenoidů. Zavlažování jehlice nemělo na tyto jevy vliv, ale odpařovaná voda ochlazovala okolí jehlice až o 10°C. Ozařování roztoku β -karotenu (celkem 30 min) vedlo k poklesu absorbance pozorovaných pásů UV-VIS spektra téměř na polovinu (obr. 5), tj. k rychlé degradaci β -karotenu.

Naše další úsilí bude přizpůsobit podmínky ozařování slunečním simulátorem tak, aby nedocházelo k tepelné degradaci jehličí.

Tato studie byla finančně podpořena Grantovou agenturou České republiky (projekt číslo 203/05/0697).

Literatura

1. Andreev G. N., Schrader B., Schulz H., Fuchs R., Popov S., Handjieva N.: Fresenius J. Anal. Chem. 371, 1009 (2001).
2. Branska M., Schulz H., Rösch P., Strehle M.A., Popp J.: Analyst 129, 926 (2004).
3. Hirschfeld T., Chase B.: Appl. Spectrosc. 40, 133 (1986).
4. Fujiwara M., Hamaguchi H., Tasumi M.: Appl. Spectrosc. 40, 137 (1986).
5. Křížová J., Matějka P., Budínová G., Volka K.: J. Mol. Struct. 480-481, 547 (1999).
6. Matějka P., Tokárová H., Pekárek T., Volka K.: J. Mol. Struct. 661-662, 333 (2003).
7. Matějka P., Plešerová L., Budínová G., Havířová K., Mulet X., Skácel F., Volka K.: J. Mol. Struct. 565-566, 305 (2001).
8. www.lot-oriel.de