

УДК 550.4

Г.А. Меркушина*, Н.С. Ларина

Тюменский государственный университет, Россия, г. Тюмень

*E-mail: galochca72@mail.ru

Особенности определения фотосинтетических пигментов в торфах различного генезиса

В работе представлены результаты отработки спектрофотометрической методики по определению фотосинтетических пигментов в пробах торфа различного генезиса. По результатам реализации данной методики в условиях внутрилабораторной прецизионности относительная погрешность при определении хлорофилла «а» не превышает 20 %, хлорофилла «б» - 32%.

Ключевые слова: фотосинтетические пигменты, хлорофилл «а», торф.

G.A. Merkusheva, N.S. Larina

Features of the determination of photosynthetic pigments in peats of different genesis

The paper represents the results on working out spectrophotometric procedure for determination of photosynthetic pigments in peat samples of different origin. According to the results of implementation of this technique at conditions of inter-laboratory precision, relative error in determination of chlorophyll "a" does not exceed 20%, chlorophyll "b" - 32%.

Key words: photosynthetic pigments, chlorophyll "a", peat.

Г.А. Меркушина, Н.С. Ларина

Әр түрлі генезисті шымтезектерде фотосинтетикалық пигменттерді анықтаудың ерекшеліктері

Жұмыста әртүрлі генезисті шымтезек үлгілерінде фотосинтетикалық пигменттерді анықтаудың спектрофотометрлік әдістемесін жүргізудің нәтижелері келтірілген. Келтірілген әдістемені ішкілабораториялық дәлдік жағдайында орындаудың нәтижелеріне сәйкес хлорофилл «а» анықтау кезінде салыстырмалы қателік 20 %-дан аспайды, ал хлорофилл «б» үшін 32 %.

Түйін сөздер: фотосинтетикалық пигменттер, хлорофилл «а», шымтезек.

Введение

Палеореконструкция климатических и экологических условий приобретает ведущее значение в мониторинге окружающей среды и прогнозе возможных изменений в будущем. Количество объектов палеомониторинга ограничено, как количественно, так и территориально. К их числу можно отнести льды, торфяные и донные отложения. Общим для этих объектов является послойный характер отложений и незначительное перемещение компонентов между слоями после их формирования. Значительное количество работ по палеореконструкциям в качестве объекта исследования используют торфяные залежи, степень разложения которых после их

формирования изменяется незначительно. Наиболее активно в настоящее время развиваются полиэкологические и ботанические методы [1-2], которые уже стали классическими для такого рода исследований. Однако эти методы требуют больших затрат времени и труда, нередко носят субъективный характер [3]. В последнее время получают распространение методы послойного геохимического анализа минерального и органического состава торфяных залежей, которые также позволяют реконструировать условия формирования слоев залежи [4-7]. В геохимических исследованиях особое внимание привлекает изучение состава органического вещества [8-9]. Торфяные почвы могут содержать до 98% ор-

ганического вещества. Согласно общей теории гумификации Д.С. Орлова [3] в составе органической компоненты почвы можно выделить 2 основные группы веществ: 1) лабильные, легко трансформируемые и разлагаемые, и 2) устойчивые, накапливающиеся в течение длительного времени. Вещества 1-й группы: лигнин, целлюлоза, аминокислоты, хлорофиллы и др., наиболее быстро реагируют на изменение внешних условий, легко усваиваются и разлагаются микроорганизмами. Вещества 2-й группы представлены тремя важнейшими группами: гуминовыми кислотами, фульвокислотами и негидролизуемым остатком. Эти вещества значительно устойчивее большинства соединений 1-й группы, с ними связаны многие относительно «консервативные» свойства торфа: запасы углерода и азота, емкость поглощения, окраска. Изучение данной группы веществ позволяет оценивать степень разложения торфа в различные периоды его формирования [10], и на основе полученных данных реконструировать условия, при которых они формировались. В определенных условиях, в частности при изоляции почвы от биологически активной внешней среды, могут длительно сохраняться и некоторые признаки первой группы (например, хлорофилл), по которым также «...можно реконструировать палеоклиматологическую обстановку...» [11]. В биосфере присутствует и функционирует значительное количество фотосинтетических пигментов, представленных различными формами хлорофилов и бактериохлорофилов - хлорофиллы (a, b, c, d), бактериохлорофиллы (a, c, d, e) отличающиеся положением и количеством заместителей в порфириновом ядре. Помимо хлорофиллов в высших растениях всегда присутствуют жирорастворимые пигменты – каротиноиды. Следовательно, в составе торфа, который образуется путем разложения отмерших частей деревьев, кустарников, трав и мхов, органическое вещество содержит в т.ч. хлорофиллы и каротиноиды. В процессе преобразования торфа хлорофиллы подвергаются разрушению, и с увеличением степени разложения их количество резко снижается [12]. Хлорофилл является одной из форм азота в торфе и поэтому интересен для оценки интенсивности протекающих в почве биохимических процессов. Чем более активна микрофлора, тем напряженнее окислительные процессы, тем быстрее

разлагается хлорофилл и ниже его содержание [9]. Вследствие того, что к изменению интенсивности биохимических процессов приводят, в первую очередь, климатические изменения, то применение данных о содержании хлорофилла в торфяниках дает возможность реконструкций прошлых изменений с привязкой ко времени их образования. Для определения фотосинтетических пигментов могут быть использованы такие свойства как способность к поглощению и испусканию квантов света, растворимость в полярных и неполярных растворителях, абсорбция на твердых адсорбентах [12]. В современной практике состав и содержание пигментов в растительных тканях определяют методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [14]. Однако использование этого метода не всегда оправдано из-за его трудоемкости, относительно высокого предела обнаружения и высокой стоимости. В ряде случаев применяют более простой и дешевый спектрофотометрический метод оценки количественного содержания пигментов в экстрактах. Данный метод является более чувствительным, поэтому в определении растительных пигментов по-прежнему используется как базовый и калибровочный [3, 13, 15, 16]. Основным достоинством данного метода является простота получения аналитической информации при минимальных временных затратах и высокая чувствительность.

Целью данного исследования было изучение возможности применения спектрометрического метода при анализе проб торфа различного генезиса, оптимизация условий определения концентрации фотосинтетических пигментов.

Объекты и методы

В качестве объектов исследования были взяты пробы из 2-х торфяников верхового типа: Топорковский и Андреевский рям, а также пробы низинного торфяника – Орловское займище. Все торфяники расположены на юге Тюменской области. Отбор проб проводился методом открытой шурфовки с послойным отбором проб с шагом 3 - 5 см. Образцы для геохимического анализа в лабораторных условиях доводились до воздушно-сухого состояния, измельчались и просеивались через сито ($d = 2$ мм). Экстракцию фотосинтетических пигментов проводили раствором ацетона.

В основу анализа фотосинтетических пигментов в торфе была положена методика, применяемая при анализе природных вод [14]. Вариации данной методики используются рядом исследователей [12, 16] применительно к определению растительных пигментов в донных осадках. В таблице 1 представлены основные положения методик по определению фотосинтетических пигментов в природных объектах. Основной отличительной чертой применяемых методик являются особенности пробоподготовки исследуемого материала, а также время

экстракции. При анализе донных отложений в зависимости от предполагаемой концентрации и типа грунта используют различные навески пробы. Методика определения фотосинтетических пигментов для анализа торфа на примере Гурского торфяника, расположенного на территории Нижнего Приамурья применялась авторами [3]. Поэтому для оценки возможности применения данной методики к торфам различного генезиса нами было изучено влияние различных условий на определение фотосинтетических пигментов.

Таблица 1 – Основные положения методик определения фотосинтетических пигментов

Объект	Количество пробы	Время экстрагирования	Концентрация экстрагента	Формулы для расчета
Определение хлорофилла «а» фитопланктона в пробах вод морских и поверхностных суши [14]	От 0,02 до 40 дм ³	30 мин, центрифугирование 8000 тыс. об/мин в течение 15 мин	90% раствор ацетона	1-4
Определение хлорофиллов а, b, с, каротиноидов в образцах торфа [3]	0,1000 г	24 часа, фильтрование через двойной складчатый фильтр	90% раствор ацетона	1-4
Определение растительных пигментов в донных отложениях [12]	От 0,2 до 11,0 г (исследование влажного образца)	Многократное экстрагирование по 3 мин, центрифугирование 8000 тыс. об/мин в течение 15 мин	90% раствор ацетона	5
<p>Формулы для расчета фотосинтетических пигментов:</p> $C_{хл"а"} = (11,85 * (A_{665} - A_{750}) - 1,54 * (A_{645} - A_{750}) - 0,08 * (A_{630} - A_{750})) * \frac{V_{\text{э}}}{a * l} \quad (1)$ $C_{хл"b"} = (21,03 * (A_{645} - A_{750}) - 5,43 * (A_{665} - A_{750}) - 2,66 * (A_{630} - A_{750})) * \frac{V_{\text{э}}}{a * l} \quad (2)$ $C_{хл"с"} = (24,52 * (A_{630} - A_{750}) - 1,67 * (A_{665} - A_{750}) - 7,6 * (A_{645} - A_{750})) * \frac{V_{\text{э}}}{a * l} \quad (3)$ $C_{каротиноидов} = (10 * (A_{480} - A_{750})) * \frac{V_{\text{э}}}{a * l} \quad (4)$ $\text{Уравнение Лоренца } C_{хл"а"} = (26,73 * (A_{665} - A_{665к})) * \frac{V_{\text{э}}}{a * l} \quad (5),$ <p>где $A_{480}, A_{630}, A_{645}, A_{665}, A_{750}$ - оптические плотности экстрактов при соответствующих длинах волн; $A_{665к}$ - оптическая плотность подкисленного экстракта; $V_{\text{э}}$ – объем экстрагента, мл; a – масса навески торфа (г) или объем пробы (дм³), l – длина кюветы, см.</p>				

Снятие спектральных линий проводили на спектрофотометре UV-Vis Agilent 8453 в кюветах

с рабочей длиной 10 мм, измеряя оптические плотности экстрактов на длинах волн 750, 665,

645, 630, 480 и 430 нм. В качестве раствора сравнения применяли водный раствор ацетона той концентрации, которую применяли для экстракции. Расчет концентраций фотосинтетических пигментов проводился в соответствии с ГОСТ 17.1.4.02-90 по формулам (1-4), приведенным в таблице 1.

Результаты и обсуждение

Оптимизация условий спектрофотометрического определения фотосинтетических пигментов. Для определения оптимальных условий определения фотосинтетических пигментов в торфе варьировались следующие условия: время экстракции, масса навески, концентрация растворителя, тип торфяных отложений. На ри-

сунке 1 представлены спектры поглощения ацетоновых экстрактов торфа различного генезиса. Спектры образцов торфа верхового и низинного типов принципиально различаются как по количеству наблюдаемых пиков, так и по степени их выраженности. На спектре ацетоновой вытяжки из верхового торфа наиболее выражен пик при длине волны 665 нм ($A=0,11$) и очень слабо выраженный пик при длине волны 530 нм. При длине волны более 700 нм оптическая плотность практически не изменяется и не зависит от массы навески торфа. При всех остальных характерных для фотосинтетических пигментов длинах волн пиков не наблюдается, хотя величина оптической плотности при длинах волн 430, 480 нм растет.

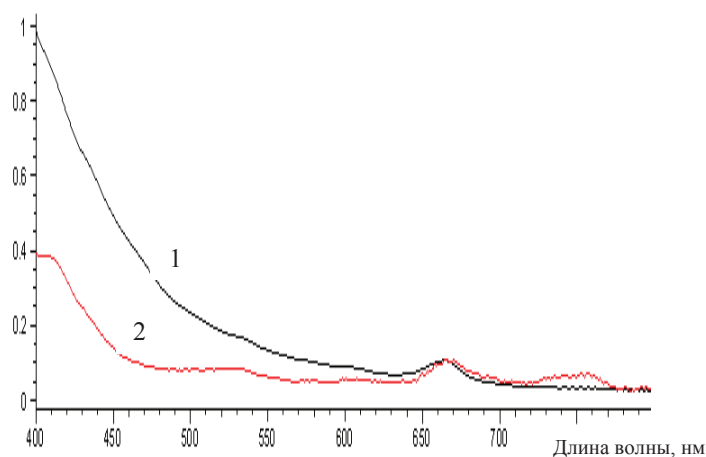


Рисунок 1 — Спектры поглощения ацетоновой вытяжки проб верхового торфа (1) и низинного торфа (2). Условия эксперимента: масса навески 0,3 г, $C_{\text{ацетона}} = 90\%$, $V_{\text{ацетона}} = 15$ мл, время экстракции — 5 часов

На спектре ацетоновой вытяжки из низинного торфа наблюдаются хорошо выраженные максимумы при длинах волн 750, 665 нм, оптическая плотность при которых прямопропорциональна массе навески. Кроме этого выделяется пик при длине волны 530 нм, высота которого также зависит от массы торфа. При длинах волн 430, 480, 630, 645 пиков на спектре не наблюдается, но величина оптической плотности зависит от массы торфа. В области длин волн 520 – 530, 745 – 750 нм в соответствии с литературными данными [17, 18] поглощает бактериохлорофилл «а». Данные пигменты содержат пурпурные и зеленые бактерии.

Для определения оптимальных значений времени экстракции получили ряд данных при сле-

дующих условиях: масса навески 0,10, 0,20, 0,30 г, $V_{\text{ацетона}} = 15$ см³. Время экстракции — 5, 30 мин, 1, 2, 3, 5 часов при перемешивании, далее 16, 20, 24 часа при настаивании. Увеличение времени экстракции, в соответствии с рисунком 2, от 5 до 24 часов не влечет существенного изменения значений оптических плотностей. При увеличении массы навески пробы торфа прямопропорционально увеличивается значение оптической плотности. При соотношении торф:ацетон 0,3 гр на 15 см³ раствора ацетона значения оптических плотностей находятся в диапазоне наиболее достоверных значений. Следовательно, при анализе проб с малыми значениями содержания хлорофилла возможно увеличение соотношения массы навески к объему ацетона.

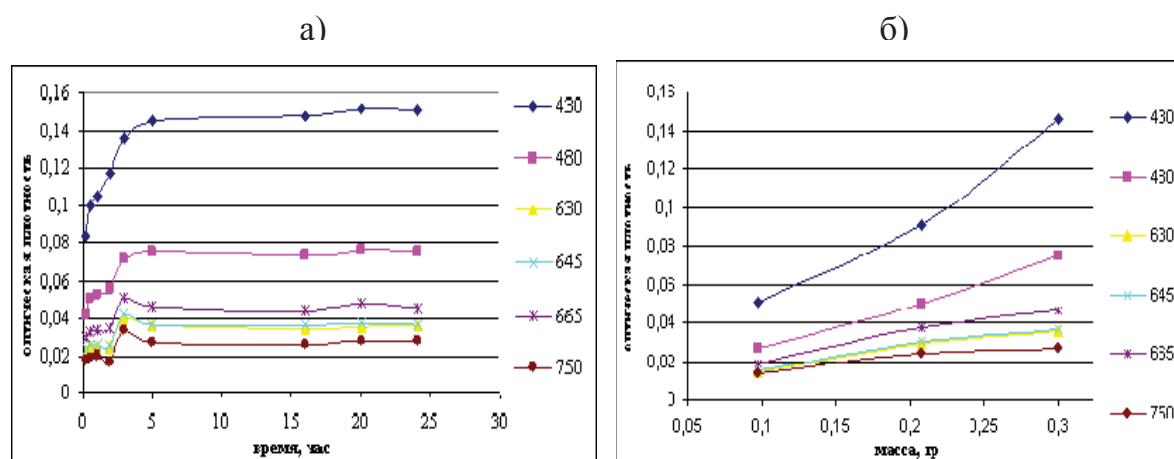


Рисунок 2 – Изменение значения оптической плотности на характеристических длинах волн от времени экстракции (а) и при изменении массы навески торфа при проведении экстракции в течение 5 час (б)

Исходя из полученных результатов, в качестве оптимальных были приняты следующие условия: масса пробы 0,30 г, концентрация ацетона 90%, экстракция в течение 5 часов при постоянном перемешивании. При таких условиях происходит наиболее полное извлечение определяемых пигментов.

При проведении эксперимента в оптималь-

ных условиях для установления метрологических характеристик были получены по 5 результатов в условиях повторяемости и по 20 результатов для проб каждого из трех торфяников в условиях внутрилабораторной прецизионности. Значения интервальных оценок метрологических характеристик, рассчитанные для доверительного интервала $P = 0,95$ представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Метрологические характеристики определения фотосинтетических пигментов

Показатель	Характеристики погрешностей ¹	Наименование торфяника (тип торфа)		
		Топорковский рям (верховой)	Андреевский рям (верховой)	Орловское займище (низинный)
Хлорофилл «а»	среднее значение, мкг/г	34,30	23,10	10,86
	г, мкг/г (n=5, P=0,95)	0,40	0,30	0,45
	R, мкг/г (N=20, P=0,95)	6,30	5,90	2,40
	Δ , %	19,50	15,15	15,70
Хлорофилл «b» ₂	среднее значение, мкг/г	15,20	38,50	-
	г, мкг/г (n=5, P=0,95)	0,35	0,34	-
	R, мкг/г (N=20, P=0,95)	6,75	8,42	-
	Δ , %	31,50	15,50	-

Продолжение таблицы 1

Каротиноиды	среднее значение, мкг/г	123,10	303,80	14,90
	г, мкг/г (n=5, P=0,95)	4,50	8,80	2,00
	R, мкг/г (N=20, P=0,95)	27,50	49,70	11,10
	Δ, %	15,80	11,60	40,00
Примечание: ¹ Характеристики погрешностей рассчитаны по РМГ 61-2003 [10]; ² Рассчитанные концентрации хлорофилла «b» Орловского займища имеет нулевые значения				

Исходя из таблицы 1 предел повторяемости значений хлорофиллов «a» и «b» в пробах верховых торфяников не превышает 0,40 мкг/г, для низинного – 0,45 мкг/г. Относительная погрешность определения в условиях внутрилабораторной прецизионности при определении хлорофилла «a» не превышает 20 %, хлорофилла «b» - 32%. При малых концентрациях определяемых компонентов, в частности, каротиноидов

в пробах низинного торфяника Орловское займище, значения погрешностей максимальны.

При оптимальных условиях были исследованы образцы торфа верховых торфяников Андреевский рям и Топорковский рям и низинного торфяника Орловское займище. Полученные данные обработали с учетом информации радиоуглеродного анализа [9].

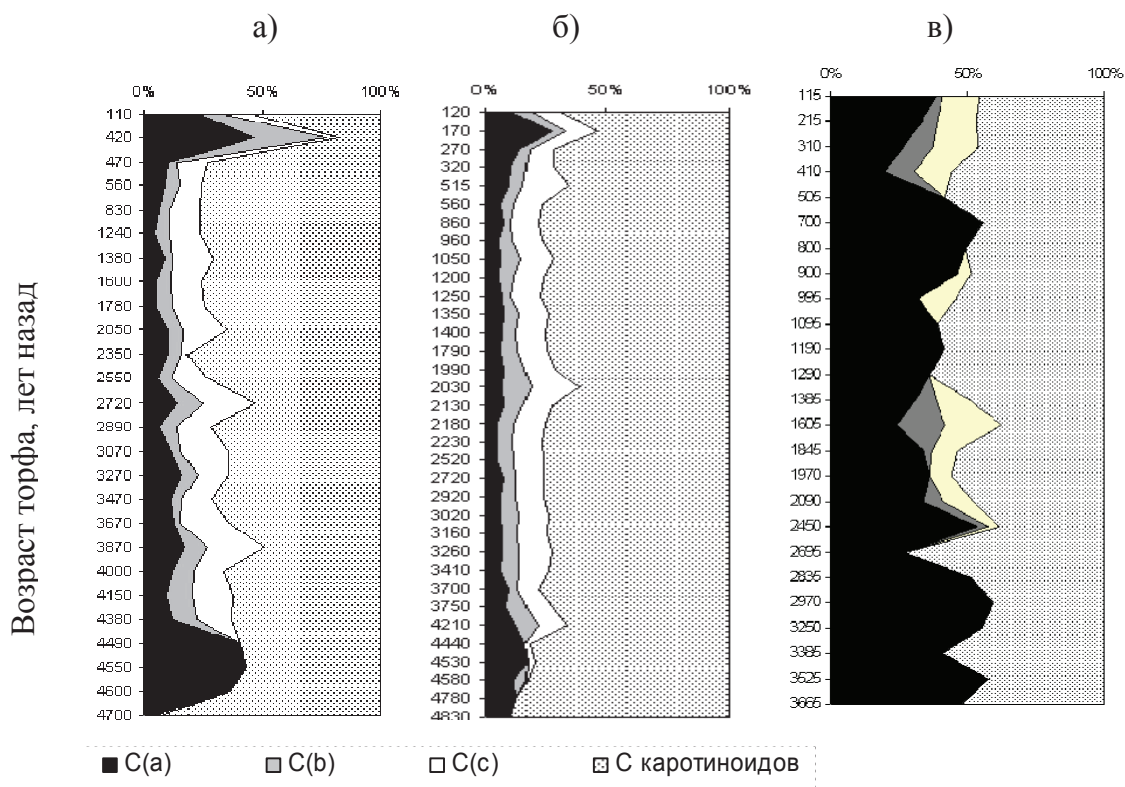


Рисунок 3 – Нормируемые графики распределения хлорофиллов «a», «b», «c» и каротиноидов по разрезам Андреевского (a) и Топорковского (б) рямов, Орловского займища (в)

В соответствии с рисунком 3 видно, что сохранность пигментов в различные временные периоды развития торфяников является неоднородной. Наибольшее количество пигментов, а также качественное разнообразие фотосинтетических пигментов, в профиле Топорковского яма наблюдается в период 1800 – 2200 лет назад. В этот же временной интервал в профиле Андреевского яма также отмечен один из максимумов содержания пигментов. В нижней части торфяников (4400-4800 лет назад) основным сохранившимся пигментом является хлорофилл «а». В низинном торфе концентрация хлорофилла «а» составляет до 50 % сохранившихся фотосинтетических пигментов.

Выводы

1. Для исследования фотосинтетических пигментов в торфах оптимальным является проведение экстракции в течение 5 часов при постоянном перемешивании. Соотношение массы навески к объему экстрагента выбирается исходя из ориентировочного содержания фотосинтетических пигментов. Вычитание величины

оптической плотности при длине волны 750 нм при расчетах концентрации фотосинтетических пигментов не всегда является целесообразным, т.к. в этой области спектра в соответствии с литературными данными [17, 18] поглощает бактериохлорофилл «а». Данные пигменты содержат пурпурные и зеленые бактерии.

2. Абсолютные значения определяемых хлорофиллов в пробах низинного торфа в 2-20 раз меньше, концентраций, полученных при анализе проб верхового торфа. При увеличении разложения проб торфа происходит уменьшение концентрации хлорофилла.

3. Реализация методики определения фотосинтетических пигментов в лаборатории дает следующие метрологические характеристики: относительная погрешность определения в условиях внутрилабораторной прецизионности при определении хлорофилла «а» не превышает 20 %, хлорофилла «b» - 32% в диапазоне измеряемых величин 10 - 40 мкг/г.

Исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации, соглашение 14.B37.21.1900

Литература

- 1 Дорожжани М.В. Результаты палинологического изучения голоценового торфяника района Мыса Фуглехукен, о-в Земля Принца Карла, архипелаг Шпицберген // Изв. РГО. 2007. - Т.139. - Вып.6. - С. 30-33
- 2 Рябогина Н.Е., Якимов А.С. Палинологические и исследования на археологических памятниках: анализ возможностей и методика работ// Вестник археологии, антропологии и этнографии. - 2010. - №2. - С. 186-200.
- 3 Климин М.А., Сиротский С.Е. Распределение фотосинтетических пигментов в профиле торфяных отложений как отражение колебаний климата в голоцене // Биогеохимические и геоэкологические процессы в экосистемах. - Владивосток: Дальнаука, 2005. - Вып. 15. - С. 237-248.
- 4 Меркушина Г.А., Ларина Н.С., Ларин С.И. Особенности дифференциации органического вещества и некоторых металлов в профиле верховых торфяников // Тез.докл III Межд. конф. «Окружающая среда и менеджмент природных ресурсов». 6 – 8 ноября. 2012 г. – Тюмень, 2012. – С. 148 – 150.
- 5 Silamikele I., Klavins M., Nikodemus O. Major and trace element distribution in the peat from ombrotrophic bogs in Latvia // Journal of Environmental Science and Health. - V. 46 – 2011. – P. 805-812.
- 6 Ларина Н.С., Елфимова Г.А., Ларин С.И., Юферева Е.С. Изменчивость содержания различных форм тяжелых металлов в верховых торфяниках Ишимской равнины в голоцене // Вестник ТюмГУ. – Тюмень. – 2004. - №3. - С. 38-45.
- 7 Ковалева Н.О. Органическое вещество почв как источник палеоклиматической и палеоландшафтной информации // II Международная науч. конф. «Гуминовые вещества в биосфере»: Тез. докл. – М., 2003. – С. 40 – 41.
- 8 Мартынова Н.А. Химия почв: органическое вещество почв. – Иркутск: Изд-во ИГУ. 2011. – 257с.
- 9 Меркушина Г.А., Ларина Н.С., Ларин С.И. Исследование группового и фракционного состава гумуса в голоцене // Вестник ТюмГУ. – Тюмень. – 2013. - №4. – в печати
- 10 Орлов Д.С., Бирюкова О.Н., Суханова Н.И. Органическое вещество почв Российской Федерации. - М.: Наука, 1996. - 256 с.
- 11 Зверева А.В., Писарева С.И., Юдина Н.В. Тетрапирольные пигменты в гумусовом органическом веществе // Химия растительного сырья. 1999. - №4. - С. 31 - 34.
- 12 Сигарева Л.Е. Хлорофилл в донных отложениях волжских водоемов / Отв. ред. Копылов А.И. М.: Товарищество научных изданий КМК. 2012. – 217 с.

- 13 Глызина О.Ю., Барам Г.И. Исследование фотосинтетических пигментов симбиотических водорослей байкальских губок // Химия в интересах устойчивого развития. 2002 г. - № 10. - С.301-305.
- 14 ГОСТ 17.1.4.02-90 «Методика спектрофотометрического определения хлорофилла «а»
- 15 Lorenzen C.J., Jeffrey S.W. Determination of chlorophyll in seawater // UNESCO technical papers in marine sciences. Paris. - 1980. - Vol.35. - 20 p.
- 16 Номоконова В.И. Содержание фотосинтетических пигментов в воде и донных отложениях водоемов Самарской Луки // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. – 2011. – Т.20, № 2. – С.54-70.
- Woodward, R. B.; Ayer, William A.; Beaton, John M. The total synthesis of chlorophyll a // Tetrahedron, 1990, V.46, №22: P. 7599–7659.
- 2399622 C2 RU Новые производные порфиринов, в частности хлоринов и/или бактериохлоринов, и их применение в фотодинамической терапии / Мигенш Перейра Мария, Арнаут Морейра Луиш Гильерми (УНИВЕРСИДАДИ ДИ КОЙМБРА (PT)). - № 2007122529/04; Заявл. 10.11.2005
- Трифонов С.В. Определение содержания основных пигментов фотосинтетического аппарата в листьях высших растений // Методические указания к лабораторной работе. Сибирский федеральный университет. Красноярск, 2011, 15 с.

References

- 1 Dorozhkina M.V. Results of the palynological study of Holocene peatland area of Fuglehuken Cape, the island of Prins Karls Land, Svalbard. Math. RGO.2007. 139 (6). - P. 30-33.
- 2 Ryabogina NE, Yakimov AS Palynological studies at archaeological sites : analysis of the possibilities and methods of work . *Bulletin of Archaeology , and antrologii etnogafii*, 2010. 2. P. 186-200.
- 3 Klimin M.A., Sirotskiy S.E.. Distribution of photosynthetic pigments in the profile of peat deposits as a reflection of climate variability in the Holocene. Biogeochemical and geo-ecological processes in ecosystems. Vladivostok Dal'nauka 2005. 15. P. 237-248.
- 4 Merkushina G.A., Larina N.S., Larin S.I. Features differentiation of organic matter and some metals in peat bogs profile. Proceeding of III Int. conf. "Environment and natural resources management." 6 - 8 November. 2012 Tyumen, 2012. P. 148 - 150.
- 5 Silamikele I., Klavins M., Nikodemus O. Major and trace element distribution in the peat from ombrotrophic bogs in Latvia. *Journal of Environmental Science and Health*, 2011, 46. P. 805-812.
- 6 Larina N.S., Elfimova G.A., Larin S.I., Yufereva E.S. Variability of different forms of heavy metals in the peat bogs of the Ishim plain in the Holocene. *Vestnik TSU*. T. 2004. no 3. P. 38-45.
- 7 Kovaleva N.O. Soil organic matter as a source of paleoclimatic information and paleolandscape. II International scientific. conf. "Humic substances in the biosphere": Proc. of reports . Moscow, 2003. P. 40 - 41.
- 8 Martynova N.A. Soil Chemistry: soil organic matter. Irkutsk Univ ISU. 2011. P. 257.
- 9 Merkushina G.A., Larina N.S., Larin S.I. Study group and fractional composition of humus in the Holocene. *Vestnik TSU*, 2013. no 4. In the press
- 10 Orlov D.S., Biryukova O.N., Sukhanov N.I. Soil organic matter of the Russian Federation. Moscow: Nauka, 1996. P. 256.
- 11 Zvereva A.V., Pisareva S.I., Yudina N.V. Tetrapirrolnye pigments in the humic organic matter. Chemistry of plant raw materials. 1999, no 4. P. 31 - 34.
- 12 Sigareva L.E. Chlorophyll in the sediments of the Volga reservoirs. Edited by A.I. Kopylov. Moscow: KMK. 2012. P. 217.
- 13 Glyzina O.Y., Baram G.I. Study of photosynthetic pigments of symbiotic algae Baikal sponges. *Chemistry for Sustainable Development*, 2002, no 10. P.301-305.
- 14 GOST 17.1.4.02-90 "Methods for the spectrophotometric determination of chlorophyll" a ".
- 15 Lorenzen C.J., Jeffrey S.W. Determination of chlorophyll in seawater. UNESCO technical papers in marine sciences. Paris, 1980. 35. P.20.
- 16 Nomokonova V.I.. Content of photosynthetic pigments in water and bottom sediments of Samara Bend. Samara Bend: problems of regional and global environment. 2011. 20(2). P.54-70.
- Woodward, R. B.; Ayer, William A.; Beaton, John M. The total synthesis of chlorophyll a . Tetrahedron, 1990, 46(22): P. 7599–7659.
- RU 2399622 C2 New porphyrin derivatives, in particular chlorine and / or bacteriochlorins and their use in photodynamic therapy / Migensh Maria Pereira, Luiz Guilherme Moreira Arnaut (Universidade CI Coimbra (PT)). № 2007122529/04; Appl. 10.11.2005.
- Trifonov S.V. Determination of the main pigments of the photosynthetic apparatus in leaves of higher plants. Guidelines for laboratory work. Siberian Federal University. Krasnoyarsk, 2011. P. 15.