

## *In vitro* ispitivanje mogućnosti primene fenol crvenog, L-askorbinske kiseline, L-cisteina i galne kiseline za produženje života solarnih ćelija na bazi antocijana i hlorofila

---

*Cilj ovog rada je ispitivanje uticaja zaštitnih pigmentata (fenol crveno) i antioksidanasa (askorbinske kiseline, cisteina i galne kiseline) na usporavanje razlaganja biljnih pigmentata hlorofila i antocijana u in vitro uslovima, a time i na mogućnost primene zaštitnih boja i antioksidanasa za produženje života DSS (solarne ćelije na bazi organskih boja) ćelija na bazi hlorofila i antocijana. Ispitivan je stresni uticaj svetlosti u sistemima koji najpribližnije simuliraju unutrašnjost DSS ćelije. Spektrofotometrijski su merene koncentracije hlorofila i antocijana posle određenog vremena izlaganja stresnom faktoru. Za interpretaciju rezultata korišćeni su eksperimentalno dobijeni podaci o kinetici razlaganja biljnih pigmentata u različitim ispitivanim sistemima. Na osnovu rezultata istraživanja može se zaključiti da fenol crveno i L-cistein imaju potencijal da produže vreme poluraspada biljnih pigmentata u DSS ćelijama pri ispitivanim uslovima, dok L-askorbinska kiselina i galna kiselina ne pokazuju zaštitnu aktivnost. Zaštitnu aktivnost pokazuje i kombinovani sistem od četiri zaštitne supstance. Relativno produženje života biljnih pigmentata u ovom sistemu je od oko 60% do 110% u zavisnost od pigmenta i osvetljenosti kojom se delovalo na sistem. Pretpostavlja se da bi fenol crveno i L-cistein, kao i njihova kombinacija mogli biti uspešno korišćeni za produženje života DSS ćelija.*

---

### Uvod

Solarne ćelije na bazi organskih boja (Dye Sensitized Solar Cells, DSS ćelije) grupa su jeftinih solarnih ćelija. Ispitivanjima u poslednjih 15 godina teži se da se konstruišu DSS ćelije sposobne da zamene skupe silicijumske poluprovodničke ćelije koje su sada u upotrebi (Grätzel i Smestad 1998).

Svaka DSS ćelija sastoji se od fotosenzitivne anode, elektrolitnog rastvora i katode sa katalizatorom (*ibid.*). Anoda DSS ćelije izrađuje se od dve komponente – od jednostrano provodnog stakla ili plastike (često indijum-dopovano kalaj-dioksidno staklo – ITO staklo) 1984) i tankog sloja

---

Milan Kornjača  
(1993), Hrtkovci, 27.  
Oktobra 1a, učenik 3.  
razreda Mitrovačke  
gimnazije u Sremskoj  
Mitrovici

MENTOR:  
Dr Igor Pašti,  
Fakultet za fizičku  
hemiju Univerziteta u  
Beogradu

titanijum-dioksida na koji je kovalentno adsorbovana boja. Boje koje se koriste kod najvećeg broja DSS ćelija su organski kompleksi rutenijuma, ali moguće je korišćenje bilo kog molekula koji se može oksidovati pri izlaganju svetlosti (vidljivoj ili UV) (Grätzel i Smestad 1998). Elektrolit se sastoji od nekog reverzibilnog redoks sistema (najčešće trijodid/jodid) rastvorenog u polarnom organskom rastvaraču (koriste se nitrili, etilen-glikol i dr) (Grätzel 1998). Katoda se sastoji od jednostranoprovodnog stakla ili plastike (najčešće ITO staklo) i tankog sloja katalizatora. Najviše se ispituju ćelije sa finim slojem platine kao katalizatorom, ali kao katalizator može poslužiti i sloj grafita ili aktivnog uglja (Grätzel i Smestad 1998).

Jedna od grupa DSS solarnih ćelija su ćelije na bazi prirodnih pigmentata, antocijana i hlorofila. Velika prednost ovih ćelija jeste dostupnost i niska cena organske boje (naspram, daleko skupljih i težih za dobijanje, rutenijumovih kompleksâ). Osnovni nedostatak DSS ćelije na bazi pigmentata jeste nepostojanost ovih pigmentata. Pri dužem izlaganju svetlosti, naročito UV, te pri dejstvu atmosferskog kiseonika, dolazi do trajne oksidacije pigmentata, a time i do smanjenja efikasnosti, i na kraju, do neupotrebljivosti ćelije. To je osnovni razlog što nije razmatrana primena ovog tipa DSS ćelija (Grätzel 2003)

Zbog prirode faktora koji utiču na skraćivanje života DSS ćelije (svetlost i oksidativni stres), pretpostavlja se da je moguće produžiti život DSS ćelija korišćenjem antioksidanasa koji usporavaju oksidaciju pigmenta. Skora ispitivanja vršena za organski sintetisane pigmente su dala pozitivne rezultate (Grätzel 2003).

U biljkama, kao i u DSS ćelijama dolazi do problema zaštite fotosintetskih pigmentata. Biljke ovaj problem rešavaju stvaranjem sistema antioksidativne zaštite i stvaranjem zaštitnih pigmentata (Halliwell 1987). Kako DSS ćelije funkcionišu po istom principu kao i fotosinteza, moglo bi se imitacijom biljnih mehanizama zaštite uticati i na zaštitu pigmentata u foto ćelijama.

Cilj ovog rada je ispitivanje uticaja zaštitnih pigmentata (fenol crveno) i antioksidanasa (askorbinske kiseline, cisteina i galne kiseline) na usporavanje razlaganja biljnih pigmentata hlorofila i antocijana u *in vitro* uslovima, a time i na mogućnost primene zaštitnih boja i antioksidanasa za produženje života DSS ćelija na bazi hlorofila i antocijana.

## Materijali i metode

**Reakcioni sistemi.** Vršena su ispitivanja za dve grupe biljnih pigmentata (antocijane i hlorofile), sa četiri zaštitne supstance (kombinacije date u tabeli 1) i uz vidljivu svetlost dva različita intenziteta kao stresni faktor (sijalice snage 60 i 100 W).

Tabela 1. Sistemi i zaštitne supstance (+)

Ispitivani biljni pigment	Zaštitne supstance				Oznaka sistema
	Fenol-crveno	L-askorbinska kiselina	L-cistein	Galna kiselina	
hlorofili	-	-	-	-	H0 (kontrolni)
	+	-	-	-	H1
	-	+	-	-	H2
	-	-	+	-	H3
	-	-	-	+	H4
	+	+	+	+	H5
antocijani	-	-	-	-	A0 (kontrolni)
	+	-	-	-	A1
	-	+	-	-	A2
	-	-	+	-	A3
	-	-	-	+	A4
	+	+	+	+	A5

Sistemi u kojima se vrši ispitivanje uticaja svetlosti konstantnog intenziteta imali su zapreminu od 20 mL i postavljani su u Petrijeve šolje. Konstantan intenzitet i osvetljenost reakcionih sistema obezbeđen je postavljanjem Petrijevih šolja radialno u odnosu na normalnu projekciju sijalice na podlogu i fiksiranje sijalice na visinu od 25 cm. Eliminisanje uticaja dnevne svetlosti i temperature omogućeno je postavljanjem šolja u mračnu i klimatizovanu komoru (temperatura konstantno održavana na 25°C). Maksimalna refleksija svetlosti od podloge (time i maksimalna osvetljenost reakcionih sistema) postignuta je postavljanjem belog papira ispod šolja. Da se ne bi značajno menjala debljina sloja u šolji, zapremina alikvota je bila 100 µL.

**Rastvori reakcionih sistema.** Rastvori u Petrijevim šoljama su određeni tako da najpribližnije simuliraju unutrašnjost DSS ćelije (debljina sloja 4 mm, organski polarni rastvarač, dodatak joda i kalijum-jodida (tabela 2))

**Priprema acetonskog ekstrakta hlorofila.** Acetonski ekstrakt hlorofila je pripreman od sveže ubranog lišća crnog duda (*Morus nigra*). Svi listovi su bili brani sa istog stabla, sa istog sprata (radi izbegavanja variranja odnosa raličitih hlorofila usled različite izloženosti pojedinih spratova drveta Suncu). Ekstrakcija je bila vršena prelivanjem prethodno usitnjenih listova zapreminom acetona dovoljnom da ih potpuno prekrije, a zatim ostavljanjem na mračnom i hladnom mestu 12 časova (Grätzel

Tabela 2. Sastav rastvora reakcionih sistema

Vrsta biljnog pigmenta u reakcionom sistemu	Ekstakt	Zaštitne supstance	od/kalijum jodid	Dopuna
Antocijani	5 mL prethodno pripremljenog acetonskog ekstrakta antocijana	5 mL prethodno pripremljenog acetonskog ekstrakta hlorofila	0.5 mL etanolnog rastvora joda i kalijum jodida, obe supstance koncentracije 0.1 mol/L	potrebna količine etanola da bi ukupna zapremina rastvora u šolji bila 20 mL
Hlorofili	5 mL prethodno pripremljenog acetonskog ekstrakta hlorofila			

2003). Dobijeni ekstrakt je odlivan, pa filtriran, a filtrat je centrifugiran 45 minuta na 2000 obrtaja (centrifuga Harrier 15/80).

Priprema acetonskog ekstrakta antocijana. Acetonski ekstrakt antocijana je pripreman od svežih zrelih plodova crnog duda (*Morus nigra*). U isitnjene plodove bila je dodavana desetostruka zapremina acetona. Ekstrakcija je trajala 12 časova (Gräztel 2003). Dobijeni ekstrakt je odlivan, zatim filtriran, a filtrat je centrifugiran 45 minuta na 2000 obrtaja (centrifuga Harrier 15/80).

**Zaštitne supstance.** U radu su ispitivane zaštitne supstance izabrane sledećim kriterijumima:

1. Funkcija u biljnim sistemima zaštite pigmentata i antioksidativne zaštite uopšte, i to:
  - fenol crveno kao organska boja slična karotenoidima (zaštitni pigmenti u biljkama) (Demming-Adams *et al.* 1995), zbog bliskih oblasti maksimalne apsorpcije u neutralnoj i kiseloj sredini koje su postojale u rastvorima u Petrijevim šoljama (apsorpcioni maksimum beta-karotena 430nm (Dere *et al.* 1997), a fenol crvenog 454nm u uslovima koji su postojali u eksperimentu (Bigger 2004)
  - L-askorbinska kiselina kao dostupan i značajan antioksidans u biljkama (glutation-askorbatni ciklus) (Streb *et al.* 1997)
  - L-cistein kao jedinjenje sa tiolnom grupom, jedna od aminokiselina koje grade glutation (značajan antioksidans u biljkama) (Streb *et al.* 1997)
  - galna kiselina kao dostupan i čest u biljkama antioksidans iz grupe polifenola (Streb *et al.* 1997)
2. Rastvorljivost u etanolu – izabrane supstance rastvorljive granicama potrebnim za istraživanje

U tabeli 3 date su koncentracije ispitivanih zaštitnih supstanci. Za svaki sistem iz tabele 1, osim kontrolnog, ispitivane su po 3 koncentracije zaštitnih supstanci. Koncentracije su birane tako da budu usklađene sa

redom veličine koncentracije biljnog pigmenta (antocijana i hlorofila (Dere *et al.* 1998)) za antioksidativne zaštitne supstance, dok su koncentracije fenol-crvenog za red veličine manje (analogija sa karotenoidima u biljkama (Dere *et al.* 1998)). Svaki sistem je pripremljen na identičan način u dve Petrijeve šolje, od kojih je jedna osvetljavana sijalicom snage 60 W, a druga sijalicom snage 100 W.

Tabela 3. Koncentracije zaštitnih supstanci

Zaštitna supstanca	Koncentracija (mg/mL)	Sistemi u kojima će se koristiti
Fenol crveno	5	H1a, H5a, A1a, A5a
	10	H1b, H5b, A1b, A5b
	15	H1c, H5c, A1c, A5c
Askorbinska kiselina	25	H2a, H5a, A2a, A5a
	50	H2b, H5b, A2b, A5b
	75	H2c, H5c, A2c, A5c
L-cistein	25	H3a, H5a, A3a, A5a
	50	H3b, H5b, A3b, A5b
	75	H3c, H5c, A3c, A5c
Galna kiselina	25	H4a, H5a, A4a, A5a
	50	H4b, H5b, A4b, A5b
	75	H4c, H5c, A4c, A5c

Određivanje koncentracije pigmenta. Koncentracije hlorofila, odnosno antocijana u reakcionim sistemima su određivane spektrofotometrijski neposredno pre početka izlaganja stresnom faktoru, zatim na 3, 6, 10, 24 i 30 časova.

**Ukupni hlorofili.** Ukupni hlorofili su određivani spektrofotometrijski na 662 i 645 nm (UV-VIS spektrofotometar Cecil G-2000). Uziman je alikvot od 100  $\mu$ L rastvora i razblaživan etanolom do 2.5 mL. Kontrola je bila smeša acetona i etanola u odnosu 1:3. U zelenim višim biljkama, nalaze se samo hlorofil a i b, pa se koncentracija ukupnih hlorofila dobija sabiranjem njihovih koncentracija. Formula korišćena za određivanje koncentracije ukupnih hlorofila u etanolnom rastvoru na osnovu očitanih apsorbananci je (Lichtenthaler i Welbum 1989):

$$c_{an} = 25 \cdot (17.76A_{645} + 7.34A_{662}) \text{ mg/mL}$$

**Ukupni antocijani.** Ukupni antocijani su određivani pH diferencnom metodom po čengu i Brinu. Po jedan alikvot od 50  $\mu$ L je rastvaran u 2.45

mL HCl/KCl pufera (pH 1), i u 2.45 mL acetatnog pufera (pH 4.5). Merene su apsorbance na 510 i 700 nm za oba pufera (UV-VIS spektrofotometar Cecil CE2021). Kontrolu su činili HCl/KCl pufer i acetatni pufer. Koncentracija ukupnih antocijana u etanolnom ekstraktu je bila određivana po formuli (Cheng i Breen 1991):

$$c_{\text{an}} = 25 \cdot 29.6 \cdot [(A_{510} - A_{700})_{\text{pH}=1} - (A_{510} - A_{700})_{\text{pH}=4.5}] \text{ mg/mL}$$

**Interpretacija rezultata.** Rezultati merenja predstavljeni su graficima zavisnosti koncentracije biljnih pigmenata (hlorofila i antocijana) od vremena. Na osnovu grafika, analizom kinetičkih parametara upoređivani su različiti sistemi sa kontrolnom grupom, kao i sistemi međusobno. Kako je reakcija raspadanja biljnih pigmenata reakcija prvog reda (brzina raspadanja pigmenata zavisi od njihove koncentracije u rastvoru), dobijene zavisnosti su eksponencijalne, tj važi. (Zvezdanović i Marković 2008):

$$c = c_0 e^{-kt}.$$

Logaritamskom transformacijom i uvrštavanjem  $c = \frac{1}{2} c_0$ ,  $t = t_{1/2}$ , te rešavanjem po  $t_{1/2}$ , dobija se  $t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$ , tj, vreme poluraspada, parametar

koji je određivan za sve sisteme. Upoređivanjem vremena poluraspada nekog sistema sa zaštitnim supstancama i kontrolnog sistema dobija se kvantitativna mera efikasnosti usporavanja razgradnje biljnog pigmenta izazvane svetlošću ( $w$ ). Vrednost  $w$  zapravo predstavlja relativno produžene vremena poluraspada biljnog pigmenta:

$$w = \frac{t_{1/2\{HXy\}}}{t_{1/2\{H0\}}} - 1.$$

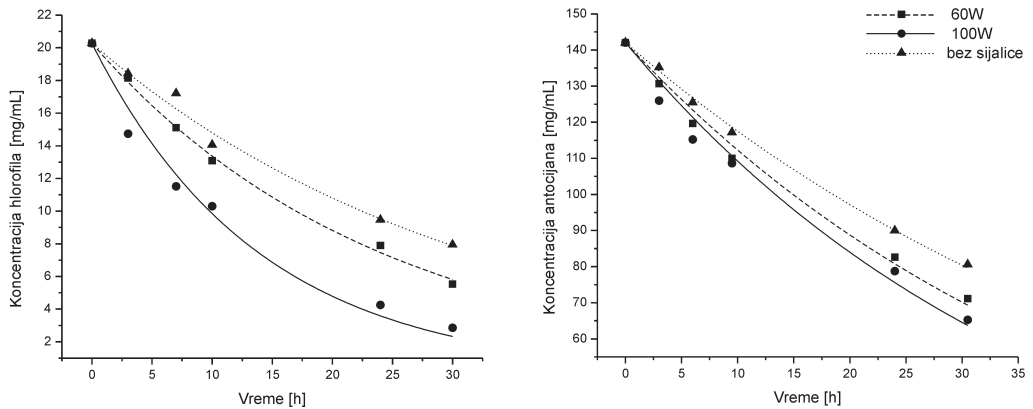
## Rezultati i diskusija

### Kontrolni sistemi

Vremena poluraspada pigmenata za kontrolne sisteme data su tabeli 4, a pad njihove koncentracije sa vremenom na slici 1.

Tabela 4. Vrednosti vremena poluraspada pigmenata za kontrolne sisteme (H – hlorofili, A – antocijani)

sistem	$t_{1/2}$ (h)	sistem	$t_{1/2}$ (h)
H0 – 100 W	9.8±0.8	A0 – 100 W	26.0±1.4
H0 – 60 W	16.6±0.4	A0 – 60 W	29.5±1.1
H0 – bez sijalice	22.0±1.0	A0 – bez sijalice	36.5±1.3



Slika 1. Kontrolni sistem za hlorofile (a) i antocijane (b) pod sijalicom od 60 W, pod sijalicom od 100 W i u mraku

Figure 1. Control system with chlorophyll pigment (a) and anthocyanin pigment (b) under the light of a 60 W bulb, 100 W and in the dark chamber

Sa slike 1 i iz tabele 4 se vidi da je najveća brzina raspada hlorofila i antocijana pod sijalicom snage 100 W, zatim pod sijalicom snage 60W, dok je najmanja u kontrolnom sistemu koji nije bio pod sijalicom, što je u skladu sa očekivanjima.

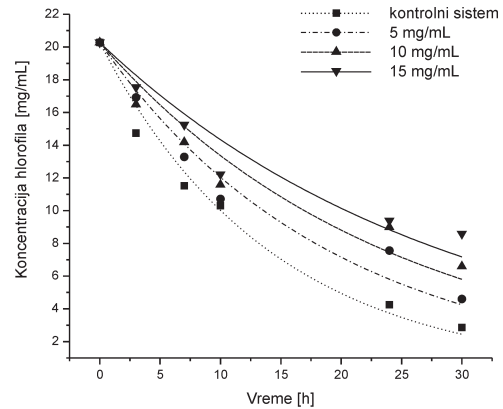
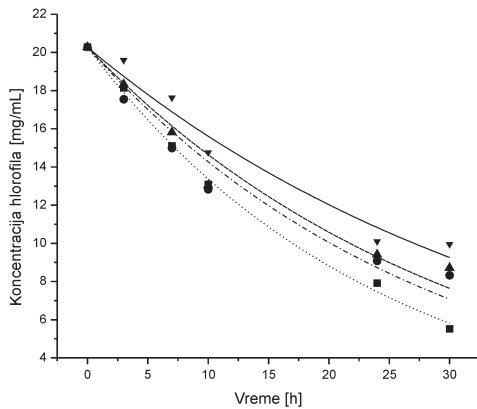
Vremena poluraspada antocijana značajno su veća od vremena poluraspada hlorofila, što je očekivano, budući da su antocijani manje osetljivi na svetlosni stres od hlorofila (Halliwell 1987).

### Sistemi sa fenol crvenim kao zaštitnom supstancom

Promena koncentracija pigmentata sa vremenom data je na slikama 2 i 3, a vremena poluraspada i relativno produženje poluraspada u odnosu na kontrolne sisteme u tabeli 5.

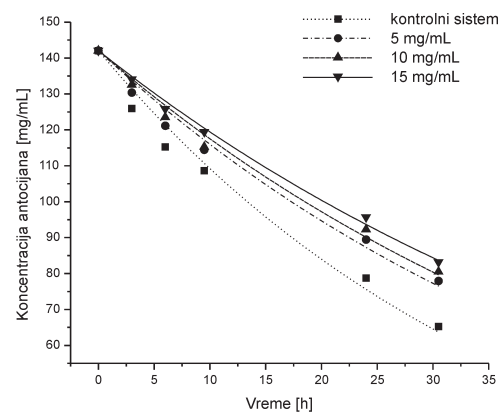
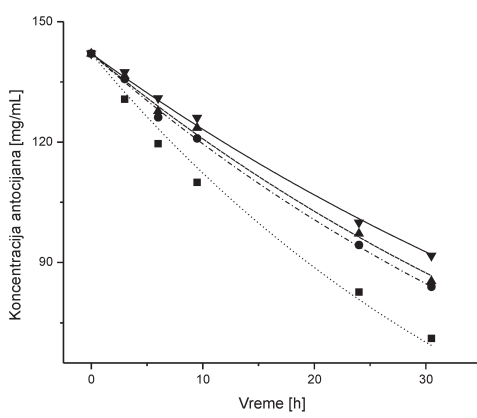
Tabela 5. Vremena poluraspada antocijana (A) i hlorofila (H) sa fenil crvenim kao zaštitnom supstancom i relativno produženje poluraspada

sistem	$t_{1/2}$ (h)	$w$ (%)	sistem	$t_{1/2}$ (h)	$w$ (%)
H0 60W	16.6±0.4	kontrolni	A0 60W	29.5±1.1	kontrolni
H1a 60W	19.8±1.7	19±2	A1a 60W	40.3±0.6	37±2
H1b 60W	21.3±1.6	28±3	A1b 60W	42.8±1.0	45±3
H1c 60W	26.6±1.2	59±6	A1c 60W	48.7±1.0	65±4
H0 100W	9.8±0.8	kontrolni	A0 100W	26.0±1.4	kontrolni
H1a 100W	13.3±1.5	35±7	A1a 100W	34.2±1.5	30±3
H1b 100W	16.6±1.8	69±13	A1b 100W	36.5±1.4	39±4
H1c 100W	20±2	104±19	A1c 100W	40.0±1.0	52±4



Slika 2. Hlorofil sistemi sa fenol crvenim kao zaštitnom supstancom pod sijalicom snage 60W (a) i 100 W (b)

Figure 2. Chlorophyll systems with phenol red as a protective substance under the light of a 60 W bulb (a) and a 100 W bulb (b)



Slika 3. Antocijanski sistemi sa fenol crvenim kao zaštitnom supstancom pod sijalicom snage 60 W (a) i 100 W (b).

Figure 3. Anthocyanin system with phenol red as protective substance under light of a 60 W bulb (a) and a 100 W bulb (b)

Sa slika 2 i 3 i iz tabele 5 može se zaključiti da fenol crveno ima značajan zaštitni efekat kako za sisteme sa hlorofilima, tako i za sisteme sa antocijanima. Relativno produženje poluraspada iznosi od 20% do 100% što ga čini pogodnim za zaštitu biljnih pigmenata u DSS ćelijama.

Značajno produženje vremena poluraspada biljnih pigmenata u sistemima sa fenol crvenim kao zaštitnim reagensom može se objasniti njegovom sličnošću sa karotenoidima, zaštitnim pigmentima u biljkama. Kako se oblasti maksimalne apsorpcije karotenoida i fenol crvenog u kiseloj i



neutralnoj sredini, kakva je postojala u eksperimentu, preklapaju, pretpostavlja se da je došlo do zaštite hlorofila i antocijana od onih talasnih dužina (područje plave i ultraljubičaste svetlosti, 300-500 nm) od kojih ih u biljkama štite karotenodi.

Može se primetiti i da se sa povećanjem koncentracija fenol crvenog u sistemu povećava i relativno vreme poluraspada biljnog pigmenta, što se objašnjava većom apsorpcijom svetlosti talasnih dužina 300-500 nm pri većim koncentracijama fenol crvenog.

## Sistemi sa L-askorbinskom kiselinom

Vremena poluraspada antocijana i hlorofila sa L-askorbinskom kiselinom kao zaštitnom supstancom data su u tabeli 6.

Tabela 6. Vremena poluraspada antocijana i hlorofila sa L-askorbinskom kiselinom kao zaštitnom supstancom

sistem	$t_{1/2}$ (h)	sistem	$t_{1/2}$ (h)
H0 60W (kontrola)	16.6±0.4	A0 60W (kontrola)	29.5±1.1
H2a 60 W	17.3±0.3	A2a 60 W	29.3±1.1
H2b 60 W	17.3±0.7	A2b 60 W	29.9±1.1
H2c 60 W	17.5±0.8	A2c 60 W	29.9±1.0
H0 100 W (kontrola)	9.8±0.8	A0 100 W (kontrola)	26.3±1.4
H2a 100 W	10.3±0.6	A2a 100 W	26.3±1.4
H2b 100 W	9.6±0.6	A2b 100 W	26.4±1.2
H2c 100 W	10.3±0.5	A2c 100 W	26.3±1.2

U sistemima sa L-askorbinskom kiselinom kao zaštitnom supstancom nije došlo do povećanja vremena poluraspada biljnih pigmentata, što je prikazano u tabeli 6. Moguća objašnjenja za ovakve rezultate:

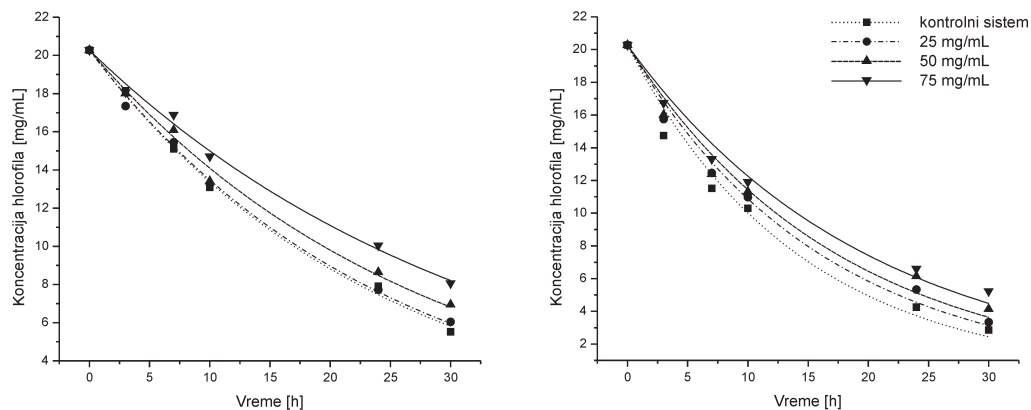
- brza oksidacija L-askorbinske kiseline jodidima
- oksidacija L-askorbinske kiseline u prisustvu atmosferskog kiseonika
- nepostojanje mehanizama za iskorišćavanje antioksidativnog kapaciteta L-askorbinske kiseline u *in vitro* sistemu za redukciju biljnih pigmentata
- zanemarljiv oksidativni stres atmosferskog kiseonika u odnosu na oksidativni stres pri osvetljavanju
- kombinacija prethodnih faktora

Pretpostavlja se da je prvi faktor najznačajniji za nemogućnost zaštite L-askorbinskom kiselinom (Anesini *et al.* 2008).

## Sistemi sa L-cisteinom kao zaštitnom supstancom

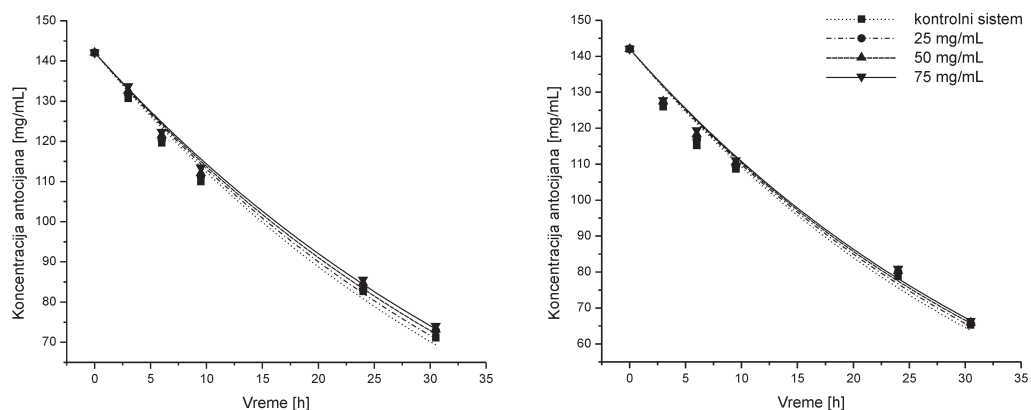
Sa slika 4 i 5 i iz tabele 7. može se zaključiti da L-cistein ima zaštitno dejstvo za hlorofile i antocijane, ali i da je to dejstvo znatno slabije nego kod fenol crvenog. Produženje vremena poluraspada pigmentata je od nekoliko procenta do najviše 40% za hlorofile, odnosno do najviše 9% za antocijane.

Moguće objašnjenje zaštitnog efekta L-cisteina jeste kombinacija dva faktora. Prvi, slabiji, jeste redukcija atmosferskog kiseonika L-cisteinom,



Slika 4. Hlorofilni sistemi sa L-cisteinom kao zaštitnom supstancom pod sijalicom snage 60 W (a) i 100 W (b).

Figure 4. Chlorophyll system with L-cysteine as a protective substance under the light of a 60 W bulb (a) and a 100 W bulb (b)



Slika 5. Antocijanski sistemi sa L-cisteinom kao zaštitnom supstancom pod sijalicom snage 60 W (a) i 100 W (b).

Figure 5. Anthocyanin system with L-cysteine as a protective substance under the light of a 60 W bulb (a) and a 100 W bulb (b)

što smanjuje oksidativni stres atmosferskim kiseonikom na biljne pigmente. Drugi, značajniji faktor, je učešće L-cisteina u redukciji samih biljnih pigmenata. Razlika u odnosu na L-askorbinsku kiselinu i galnu kiselinu može se tumačiti time što je L-cistein stabilniji na oksidaciju od L-askorbinske, a -SH grupa ima negativniji redukcionni potencijal od fenolnih i enolnih grupa galne i L-askorbinske kiseline. Tako u *in vitro* uslovima L-cistein može da redukuje biljne pigmente, dok L-askorbinska kiselina i galna kiselina to ne mogu (Halliwell 1987).

Tabela 7. Vremena poluraspada antocijana i hlorofila sa L-cisteinom kao zaštitnom supstancom i relativno produženje poluraspada u odnosu na kontrolu

Sistem	$t_{1/2}$ (h)	w (%)	Sistem	$t_{1/2}$ (h)	w (%)
H0 60W	16.6±0.4	kontrolni	A0 60W	29.5±1.1	kontrolni
H3a 60W	17.0±0.4	gg	A3a 60W	30.1±0.8	gg
H3b 60W	19.1±0.6	14.6±0.9	A3b 60W	31.2±0.9	5.9±0.4
H3c 60W	23.0±0.7	38.3±2.2	A3c 60W	32.0±0.8	8.5±0.6
H0 100W	9.8±0.8	kontrolni	A0 100W	26.3±1.4	kontrolni
H3a 100W	11.2±0.6	13.4±1.8	A3a 100W	27.0±1.2	gg
H3b 100W	12.1±0.8	23.2±3.4	A3b 100W	27.4±1.0	gg
H3c 100W	13.8±0.8	40.1±5.3	A3c 100W	27.9±1.0	5.8±0.6

gg – vrednost u granicama greške

Slabija zaštitna aktivnost u odnosu na fenol crveno tumači se razlikama u mehanizmu na koji L-cistein i fenol crveno štite antocijane i hlorofile. Dok fenol crveno apsorbuje deo svetlosnog zračenja (i to zračenje više energije, talasne dužine 300-500 nm) i tako sprečava oksidaciju biljnih pigmenata, glavna aktivnost L-cisteina je sadržana u redukciji već oksidovanih pigmenata.

Povećanje zaštitne aktivnosti sa povećanjem koncentracije L-cisteina može se objasniti pretpostavljenim mehanizmom zaštite. Što je koncentracija L-cisteina u rastvoru u reakcionim sistemima, to je veći kapacitet za redukciju biljnih pigmenata i atmosferskog kiseonika.

### Sistemi sa galnom kiselinom kao zaštitnom supstancom

U sistemima sa galnom kiselinom kao zaštitnom supstancom nije došlo do povećanja vremena poluraspada biljnih pigmenata, što je predstavljeno u tabeli 8. Moguća objašnjenja za neuspešnost zaštite su:

- nepostojanje mehanizama za iskorišćavanje antioksidativnog kapaciteta galne kiseline u *in vitro* sistemu za redukciju biljnih pigmenata

- zanemarljiv oksidativni stres atmosferskog kiseonika u odnosu na oksidativni stres pri osvetljavanju
- kombinacija prethodnih faktora

Tabela 8. Vremena poluraspada antocijana i hlorofila sa galnom kiselinom kao zaštitnom supstancom

Sistem	$t_{1/2}$ (h)	Sistem	$t_{1/2}$ (h)
H0 60W (kontrolni)	16.6±0.4	A0 60W (kontrolni)	29.5±1.2
H4a 60W	16.8±0.3	A4a 60W	29.1±1.2
H4b 60W	17.2±0.4	A4b 60W	29.7±0.9
H4c 60W	17.3±0.6	A4c 60W	29.6±1.2
H0 100W (kontrolni)	9.8±0.8	A0 100W (kontrolni)	26.3±1.4
H4a 100W	9.8±0.8	A4a 100W	26.5±1.4
H4b 100W	9.9±0.8	A4b 100W	26.3±1.3
H4c 100W	10.1±0.8	A4c 100W	26.5±1.4

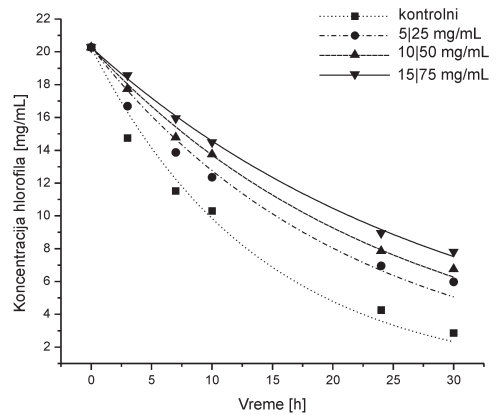
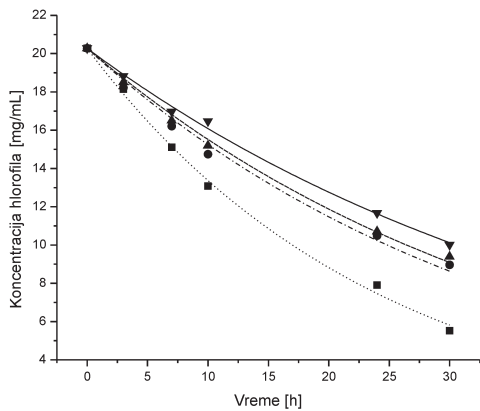
Kako je galna kiselina pri uslovima iz eksperimenta stabilna i na oksidaciju jodidima i na oksidaciju atmosferskim kiseonikom, može se pretpostaviti da je faktor nedostatka mehanizma za redukciju biljnih pigmenata *in vitro* presudan za neuspešnost zaštite galnom kiselinom.

#### Sistemi sa četiri zaštitne supstance

Četiri zaštitne supstance u jednom sistemu pokazuju znatnu zaštitnu aktivnost (slike 6 i 7, tabela 9). Relativno produženje poluraspada u ovim sistemima se kreće od oko 20% do preko 110%.

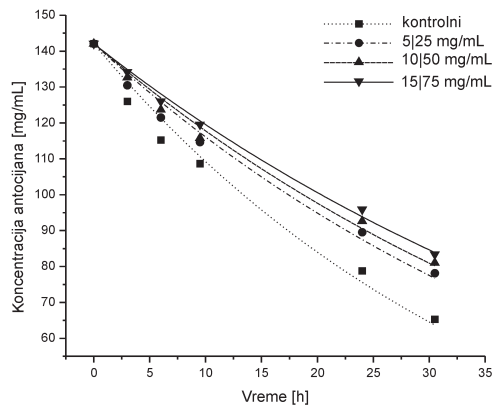
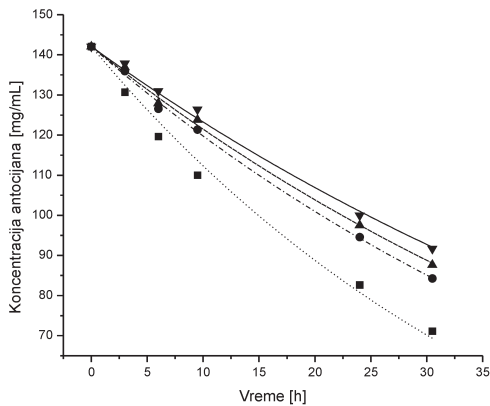
Tabela 9. Vremena poluraspada antocijana i hlorofila sa četiri zaštitne supstance i relativno produženje poluraspada u odnosu na kontrolne sisteme

Sistem	$t_{1/2}$ (h)	$w$ (%)	Sistem	$t_{1/2}$ (h)	$w$ (%)
H0 60W	16.3±0.4	kontrolni	A0 60W	29.5±1.2	kontrolni
H5a 60W	24.3±0.8	46±3	A5a 60W	40.6±0.6	38±2
H5b 60W	25.9±0.6	56±38	A5b 60W	44.2±0.8	50±3
H5c 60W	29.9±0.6	80±4	A5c 60W	48.7±1.2	65±4
H0 100W	9.8±0.8	kontrolni	A0 100W	26.3±1.4	kontrolni
H5a 100W	15.0±0.9	52±7	A5a 100W	34.3±1.5	30±3
H5b 100W	17.7±0.6	80±9	A5b 100W	36.9±1.3	40±4
H5c 100W	20.9±0.4	112±11	A5c 100W	40.1±0.9	52±4



Slika 6. Hlorofilni sistemi sa četiri zaštitne supstance pod sijalicom snage 60 W (a) i 100 W (b)

Figure 6. Chlorophyll system with four protective substances under the light of a 60 W bulb (a) and a 100 W bulb (b)



Slika 7. Antocijanski sistemi sa četiri zaštitne supstance pod sijalicom snage 60 W (a) i 100 W (b)

Figure 7. Anthocyanin system with four protective substances under the light of a 60W bulb (a) and a 100 W bulb (b)

Kako na osnovu rezultata na sistemima možemo pretpostaviti da galna i L-askorbinska kiselina ne utiču na zaštitnu aktivnost sistema zaštitnih supstanci, možemo pretpostaviti da zaštitna aktivnost u sistemu sa četiri zaštitne susptance predstavlja kombinaciju zaštitnih uticaja fenol crvenog i L-cisteina.

Iz tabela 5, 7 i 9 primećuje se da je zaštitni uticaj sistema sa četiri supstance veći od zaštitnih uticaja i fenol crvenog i L-cisteina u sistemima sa jednom zaštitnom supstancom. U zavisnosti od koncentracija fenol crvenog i L-cisteina dešava se da je njihovo zajedničko dejstvo jače ili slabije od zbira odvojenih dejstava (aditivnog dejstva). Pod pretpostavkama mehanizama za zaštitu fenol crvenim i L-cisteinom, moguće je objasniti i variranje jačine njihovog zajedničkog dejstva. Dva osnovna faktora koja određuju snagu zajedničkog dejstva su:

- sinergijski faktor koji nastaje kao posledica različitih mehanizama zaštite fenol crvenog (sprečavanje oksidacije apsorpcijom svetlosti) i L-cisteina (redukcija biljnih pigmenata i atmosferskog kiseonika), koji međusobno nisu konkurentni, već se dopunjavaju
- faktor inhibicije redukcije biljnih pigmenata L-cisteinom usled smanjene koncentracije oksidovanog oblika pigmenta koja nastaje kao posledica zaštitnog efekta fenol crvenog.

Fenol crveno i L-cistein deluju zajedno, u zavisnosti od koncentracija, sinergistički i delimično inhibitorno, kao posledica različitosti i specifičnosti pretpostavljenih mehanizama zaštite.

## Zaključak

Na osnovu rezultata istraživanja može se zaključiti da fenol crveno i L-cistein imaju potencijal da produže vreme poluraspada biljnih pigmenata u DSS ćelijama pri ispitivanim uslovima, dok L-askorbinska kiselina i gallyna kiselina ne pokazuju zaštitnu aktivnost. Zaštitnu aktivnost pokazuje i kombinovani sistem od četiri zaštitne supstance. Relativno produženje života biljnih pigmenata u ovom sistemu je od oko 60% do 110% u zavisnost od pigmenta i osvetljenosti kojom se delovalo na sistem.

Pretpostavlja se da bi fenol crveno i L-cistein, kao i njihova kombinacija mogli biti uspešno korišćeni za produženje života DSS ćelija.

---

## Literatura

- Grätzel M., Smestad Greg P. 1998. A Natural Dye-Sensitized Nanocrystalline Energy Converter. *Journal of Chemical Education*, **75**: 6.
- Grätzel M., 2003. Dye-sensitized solar cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*, **4**: 145.
- Steven L., Suib S., Tanaka J. 1984. Surface Conductive Glass. *Journal of Chemical Education*, **61**: 12.
- Halliwell B. 1987. Oxidative Damage, Lipid Peroxidation and Antioxidant Protection in Chloroplasts. *Chemistry and Physics of Lipids*, **44**: 327.
- Veron L.P. 1960. Spectrophotometric Determination of Chlorophylls and Pheophytins in Plant Extracts. *Analytical Chemistry*, **32**: 9.

- Pantelidis G.E., Vasilakakis M., Manganaris G.A., Diamantidis G. 2005. Antioxidant Capacity, Phenol, Anthocyanin and Ascorbic Acid Contents in Raspberries, Blackberries, Red Currants, Gooseberries and Cornelian Cherries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **102**: 777.
- Streb P., Tel-Or E., Feierabend J. 1997. Light Stress Effects and Antioxidative Protection in Two Desert Plants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**: 9225.
- Barbara Demming-Adams, Adams W. W. 1995. The Role of Xanthophyll Cycle Carotenoids in the Protection of Photosynthesis. *Planta*, **1**: 1.
- Dere S., Günes T., Sivaci R. 1998. Spectrophotometric Determination of Chlorophyll – A, B and Total Carotenoid Contents of Some Algae Species Using Different Solvents. *Turkish Journal of Botany*, **22**: 17.
- Anesini C., Ferraro G. E., Filip R. 2008. Total Polyphenol Content and Antioxidant Capacity of Commercially Available Tea (*Camellia sinensis*) in Argentina. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **56**: 9225.
- Lichtenthaler H. K., Wellburn A. R. 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, **11**: 591.
- Porra R. J. 2002. The chequered history of the development and use of simultaneous equations for the accurate determination of chlorophylls a and b. *Photosynthesis Research*, **73**: 149.
- Sims D. A., Gamon J. A. 2002. Relationships between leaf pigment content and spectral reflectance across a wide range of species, leaf structures and developmental stages. *Remote Sensing of Environment*, **81**: 337.
- Cheng G.W., Breen P. J. 1991. Activity of phenylalanine ammonialyase (PAL) and concentrations of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, **116**: 865.
- Zvezdanović J., Marković D. 2008. Obezbojavanje hlorofila UV zračenjem in vitro – efekti na organizaciju hlorofila u acetonu i heksanu. *Journal of the Serbian Chemical Society*, **73**: 3.

Milan Kornjača

## *In Vitro* Study of Potential Application of Phenol Red, L-ascorbic Acid, L-cysteine and Gallic Acid for Life Extension of Anthocyanin and Chlorophyll Based Solar Cells

The subject of this research has been *in vitro* studying of influence of protective pigments (phenol red) and antioxidants (ascorbic acid, cysteine and gallic acid) on life extension of chlorophyll and anthocyanin, and through this, estimation of potential application of these substances for dye sensitized solar (DSS) cell life extension.

The studied factor was stress under exposure of systems, which simulate the interior of a DSS cell, to visible light. Concentrations of chlorophyll and anthocyanin pigments after exposure to light were determined by standard spectrophotometric methods. The data obtained from analysing kinetics of pigment degradation in various examined systems were used for discussion of the results.

Based on experimental results, it may be concluded that phenol red and L-cysteine have a potential for prolonging half-life of herbal pigments in DSS cells under studied conditions, while L-ascorbic acid and gallic acid have shown no protective activity. The system with all protective substances studied has shown protective activity. Relative half-life prolonging in this system has ranged from 60% to 110%, depending on stress intensity and herbal pigment studied.

It has been assumed that phenol red and L-cysteine, as well as their combination, might be successfully used for life extension of herbal pigment based DSS cells.

