

**А.И. Лактионов**

## **Исследование флуоресценции растворенного органического вещества фотической зоны вод Черного моря**

*Кубанский государственный университет, г. Краснодар*

Поступила в редакцию 24.10.2005 г.

Представлены результаты исследований флуоресценции растворенного органического вещества (РОВ) морской воды в фотической зоне Черного моря. Проведенные исследования спектров возбуждения и флуоресценции РОВ в пробах морской воды показали, что состав флуоресцирующего РОВ изменяется в зависимости от глубины и в течение сезона.

Известно, что с глубиной состав органического вещества в морской среде меняется. В [1], в частности, сообщается, что по своим физико-химическим свойствам растворенное органическое вещество (РОВ) глубинных слоев (100–2000 м) в Черном море значительно отличается от органического вещества верхнего 100-метрового слоя. Было бы естественно, если бы вместе с изменением состава РОВ морской воды (МВ) изменялся с глубиной и спектр его флуоресценции, однако, по литературным данным [2, 3 и др.], изменений в спектрах флуоресценции РОВ в Мировом океане не наблюдалось. Эти данные вызвали сомнения и послужили основанием для проведения настоящего исследования.

Цель данной работы состояла в исследовании спектров возбуждения и флуоресценции РОВ в пробах морской воды, отобранных с разных глубин, в основном в фотической зоне Черного моря, и в изучении их сезонных изменений.

### **Аппаратура и методика проводимых исследований**

В проведенном эксперименте пробы морской воды отбирались на удалении ~10 миль от берега в восточной части Черного моря, в зоне отсутствия антропогенного загрязнения. Отбор проб производился с помощью винилпластового батометра с глубиной до 200 м по стандартной методике. Согласно Б. Скопинцеву [4] процесс формирования и разложения органической материи в основном происходит именно в этом диапазоне глубин. После отбора пробы МВ доставлялись на берег, где на установке, собранной на базе монохроматора МДР-23 при возбуждении азотным лазером ( $\lambda_{\text{ген}} = 337,1$  нм), проводилось исследование их флуоресценции.

Результаты этих измерений показали, что в регистрируемой спектральной полосе флуоресценции РОВ МВ (395–465 нм) в Черном море с глубиной наблюдаются видимые изменения. Для оценки этих изменений, со спектральным шагом 10 нм, сравнивались величины интенсивностей в исследуемой

полосе флуоресценции между пробами МВ, отобранными с глубин 15, 35, 100 и 150 м, с величинами интенсивностей в спектральной полосе флуоресценции пробы МВ, отобранной с глубины 200 м.

Коэффициенты линейной корреляции, полученные между спектральными распределениями величин интенсивностей флуоресценции в этих пробах, оказались равными 0,72 для пары проб МВ с глубин 15–200 м; 0,85 для пары 35–200 м; 0,96 для пары 100–200 м и ~1 для пары 150–200 м. Приведенная оценка подтверждает, что контур полосы флуоресценции РОВ МВ с глубиной изменяется. Как показал анализ, изменение контура полосы флуоресценции было обусловлено видимым смещением максимума в полосе флуоресценции РОВ МВ с глубиной до 20–35 нм в длинноволновую область.

Полученные результаты, не соответствующие литературным данным, дали основание для более детального изучения полосы флуоресценции РОВ МВ и спектральной области ее возбуждения на разных глубинах моря и в разное время года.

Дальнейшее исследование флуоресценции РОВ МВ выполнялось на установке для изучения люминесценции СДЛ-2. Спектральная ширина щелей монохроматора возбуждения (МДР-12) при измерениях устанавливалась 10 нм, а монохроматора регистрации (МДР-23) – 3 нм. В начале и после каждого измерения кювета, в которую заливалась исследуемая проба, подвергалась стандартной химической обработке и тщательно промывалась бидистиллированной водой. Измерения проводились в режиме счета фотонов при усреднении на каждом шаге сканирования не менее чем по 15 отсчетам. Запись полосы флуоресценции в пробе МВ с каждого горизонта проводили по 3 раза, каждый раз заменяя пробу в кювете измерений. Затем определялось среднее спектральное распределение, которое «сглаживалось», и результаты измерений выводились на самописец регистрации. Как показали результаты измерений, спектральные изменения интенсивности флуоресценции проб МВ при повторных записях не превышали 5–10%, а форма

полосы флуоресценции не изменялась. В данном исследовании выполнялись сравнительные измерения, и запись спектров возбуждения и флуоресценции производилась без коррекции на спектральные характеристики установки.

## Экспериментальные результаты и их обсуждение

Для выбора оптимальной длины волны возбуждения флуоресценции РОВ МВ и спектрального диапазона регистрации его флуоресценции проводилось исследование полосы флуоресценции РОВ в зависимости от разной длины волны возбуждения и полосы возбуждения в зависимости от разной длины волны регистрации флуоресценции РОВ. На рис. 1 представлены результаты проведенных измерений, полученные при изучении проб МВ с глубины 50 и 100 м.

Как видно из рис. 1 с увеличением длины волны возбуждения полоса флуоресценции РОВ сужается и ее максимум смещается в длинноволновую область. В полосе флуоресценции РОВ, начиная с длины волны 440 нм и далее в «красную» область, заметных изменений при разных длинах волн возбуждения не отмечалось. При регистрации флуоресценции РОВ на длинах волн ( $\lambda_{\text{рег}} = 400, 420$  и  $440$  нм) в спектрах возбуждения флуоресценции наблюдались максимумы в полосе возбуждения при 325, 330 и 345 нм. Вместе с ними присутствовало небольшое «плечо» при  $\sim 300$  нм.

При возбуждении флуоресценции РОВ излучением с длиной волны 300 нм в пробе МВ с глубины 50 м наблюдалась широкая несимметричная полоса флуоресценции, состоящая как минимум из

нескольких полос с наиболее интенсивной полосой в коротковолновой области. В спектре флуоресценции пробы МВ с глубины 100 м при данной длине волны возбуждения наблюдались четко различаемые максимумы в районе 360, 380 и 400 нм.

При длине волны возбуждения 320 нм наблюдаемый максимум в полосе флуоресценции находился в области 400–405 нм. В этом спектре флуоресценции присутствует и полоса с максимумом флуоресценции при 420 нм. Но, ввиду их близкого расположения, полосы перекрываются, а за счет того, что полоса с максимумом при 400 нм более интенсивная, чем с максимумом в районе 420 нм, этот максимум в спектре флуоресценции слабо выражен.

При возбуждении длиной волны 340 нм – наблюдалась полоса флуоресценции с одним максимумом при 420–425 нм, ответственная за консервативную часть полосы флуоресценции РОВ в МВ, присутствующую на больших глубинах Черного моря и, согласно литературным данным, в водах других морей и океанов.

Проведенное исследование подтверждает многокомпонентность флуоресцирующего РОВ (ФРОВ) в МВ, что, возможно, вызвано одновременным присутствием его продуктов, находящихся на разных стадиях биохимической трансформации.

Наличие полосы в коротковолновой области флуоресценции РОВ дало основание заключить, что исследование флуоресценции РОВ МВ при возбуждении азотным лазером ( $\lambda_{\text{возб}} = 337,1$  нм) и более длинноволновым излучением не совсем корректно. Максимум полосы спонтанного комбинационного рассеяния (СКР) воды по интенсивности значительно превосходит флуоресценцию РОВ МВ

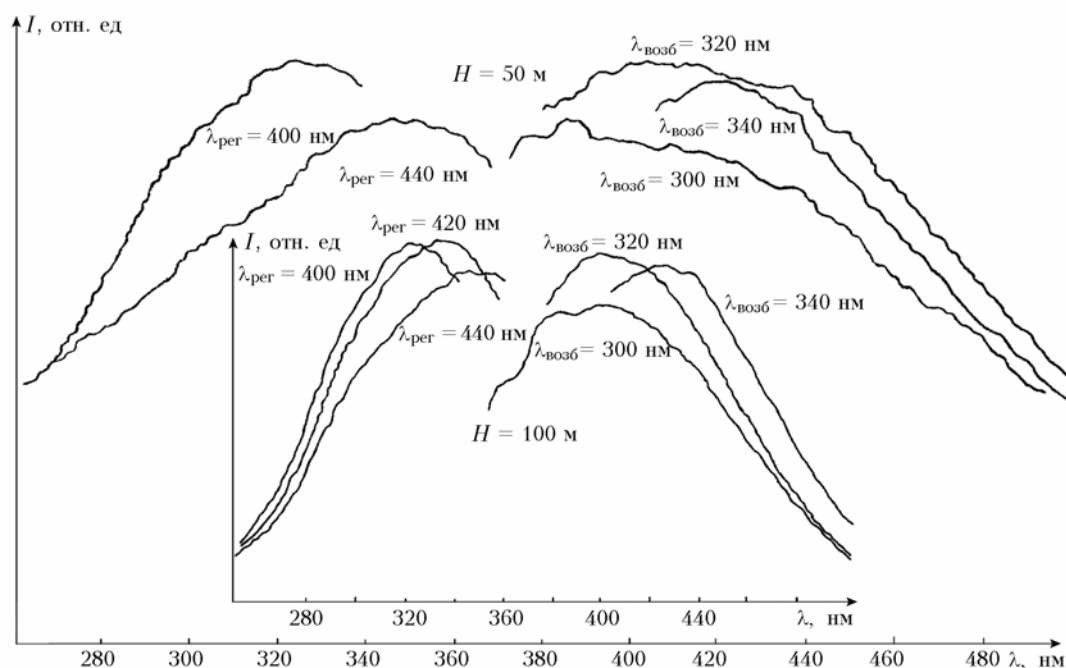


Рис. 1. Спектры возбуждения и флуоресценции проб МВ, отобранных с глубины 50 и 100 м для разных длин волн регистрации и при разных длинах волн возбуждения

и при возбуждении азотным лазером ( $\lambda_{СКР}=380$  нм) приходится на обнаруженную коротковолновую область спектра флуоресценции РОВ с максимумом в районе 385–390 нм, а СКР воды от более длинноволнового излучения накладывается на основной спектр. Ввиду слабой по сравнению с СКР интенсивности флуоресценции РОВ такое наложение не позволит проводить качественные измерения и получить полное представление о спектре флуоресценции РОВ МВ.

Таким образом, изучение контура полосы флуоресценции РОВ при разных длинах волн возбуждения позволило установить, что для проведения исследований флуоресценции РОВ МВ необходимо использовать коротковолновое возбуждающее излучение (280–300 нм). В этом случае можно регистрировать излучение большего числа флуорофорных центров, присутствующих в составе РОВ МВ, а исследуя при таком возбуждении изменение полосы флуоресценции с глубиной и в зависимости от сезона, – следить за изменениями, происходящими в составе ФРОВ морской среды.

В качестве примера на рис. 2 представлены нормированные на максимум спектры флуоресценции, измеренные при  $\lambda_{возб}=300$  нм в пробах МВ, отобранных с 50 и с 200 м. Здесь же представлена разница между этими полосами флуоресценции, полученная вычитанием одного спектра из другого, наглядно демонстрирующая изменение полосы флуоресценции РОВ с глубиной.

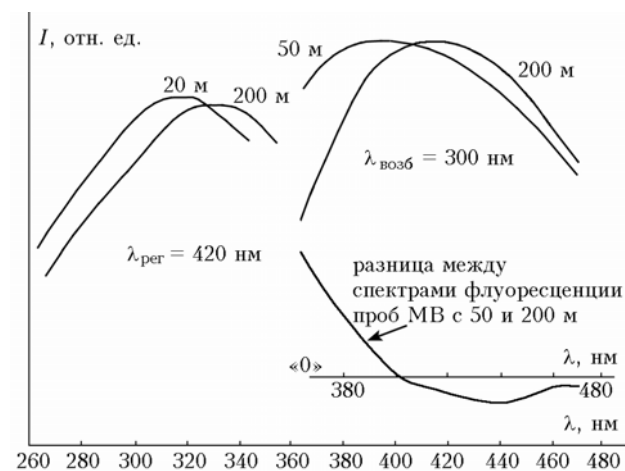


Рис. 2. Спектры возбуждения и флуоресценции проб МВ с разных глубин Черного моря

Из рис. 1 и 2 видно, что в составе ФРОВ фотической зоны моря присутствует вещество, флуоресцирующее в коротковолновой области спектра и имеющее максимум флуоресценции в районе 380–390 нм. Интенсивность его флуоресценции в этой области превалирует над интенсивностью наблюдаемого как неясное «плечо» в полосе консервативной флуоресценции РОВ МВ максимума в области 420–425 нм.

Проведенные на установке СДЛ-2 исследования подтвердили полученные ранее данные о том, что с глубиной происходит смещение максимума

в полосе флуоресценции РОВ МВ в длинноволновую область. Как показали проведенные измерения, это смещение может достигать величины 20–35 нм (см. рис. 2). Такое же смещение наблюдалось и в полосе возбуждения флуоресценции (см. рис. 2). Величина этого смещения с изменением глубины от 20 до 200 м достигала 15–20 нм.

Наблюдаемые смещения можно объяснить тем, что в составе ФРОВ фотической зоны моря присутствуют, скорее всего, нестойкие продукты с малым временем жизни, которые, согласно ответственной за них коротковолновой полосе флуоресценции, относятся к белковоподобным веществам. Их концентрация здесь значительно выше, чем на больших глубинах. Уменьшение концентрации белковоподобных веществ с глубиной влечет за собой снижение уровня интенсивности флуоресценции в этой области и, как следствие, – смещение видимого максимума флуоресценции в длинноволновую область.

Обнаруженная коротковолновая флуоресценция РОВ МВ дает возможность обоснованно сделать вывод о присутствии в фотической зоне моря белковоподобных веществ, обладающих флуоресценцией, что позволяет, используя метод флуориметрии, изучать распределение и изменение концентрации этих веществ в морской среде с глубиной, в зависимости от сезона и на протяжении ряда лет.

О существовании положительной связи между белками и флуоресценцией РОВ в МВ на верхних горизонтах моря сообщалось в работе [5]. Однако здесь измерения интенсивности флуоресценции РОВ проводились погружным флуориметром в длинноволновой области флуоресценции РОВ ( $> 450$  нм), а не в ее коротковолновой части, относящейся к области флуоресценции белков, что делает обобщения авторов чисто гипотетическими.

В результате многолетних исследований были обнаружены изменения в спектрах возбуждения флуоресценции РОВ МВ в фотической зоне моря в зависимости от сезона. Так, в спектрах возбуждения проб МВ, отобранных в апреле, до глубины более чем 65 м максимум при  $\sim 300$  нм превалировал над максимумом в районе 330 нм, в то время как в пробах за июнь максимум при 330 нм был основным. В августе основной максимум наблюдался при 320 нм и выделялось «плечо» в области 290 нм. На рис. 3 представлены спектры возбуждения проб МВ, отобранных с глубины 20 м в разное время сезона.

Проведенные исследования позволили сделать следующие выводы.

1. В спектрах флуоресценции РОВ МВ фотической зоны моря присутствуют две основные полосы с максимумами в районе 385–400 нм и при 420 нм, которые соответствуют полосам возбуждения с максимумами при 300 нм и в районе 320–330 нм.

2. С глубиной происходит смещение в длинноволновую область максимумов в спектре флуоресценции и возбуждения флуоресценции. Этот видимый батохромный сдвиг в спектрах объясняется

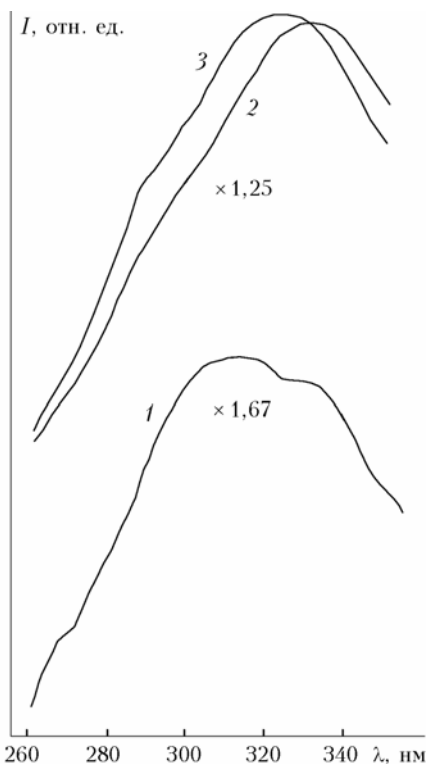


Рис. 3. Спектры возбуждения проб МВ, отобранных с глубины 20 м в разное время сезона: 1 – апрель; 2 – июнь; 3 – август

исчезновением с глубиной коротковолновой полосы возбуждения флуоресценции вместе с возбуждаемой ею коротковолновой полосой флуоресценции РОВ и обусловлен снижением с глубиной концентрации белковоподобных веществ в морской среде.

3. Обнаружены сезонные изменения в спектрах возбуждения флуоресценции РОВ фотической зоны моря, что свидетельствует об изменении состава ФРОВ морской среды в течение года. Такие изменения можно связать с периодом цветения фитопланктона, сезонными изменениями биопродуктивности и видового состава первичной продукции вод моря.

1. *Агатова А.И., Сапожков В.В., Торгунова Н.И.* Новые данные по биогидрохимии органического вещества в Черном море // Докл. АН СССР. 1989. Т. 309. № 3. С. 706–710.
2. *Карабаев Г.С.* Флюоресценция в океане. Л.: Гидрометеопиздат, 1987. 200 с.
3. *Brown M.* Laboratory measurements of fluorescence spectra of Baltic waters. Univ. Copenhagen. Inst. Phys. Oceanogr. Rep. 1974. N 29. 31 p.
4. *Скопинец Б.А.* Формирование современного химического состава вод Черного моря. Л.: Гидрометеопиздат, 1975. 336 с.
5. *Карабаев Г.С.* Фотолюминесценция вод Атлантического и Тихого океанов // Гидрохимические и гидрооптические исследования в Атлантическом и Тихом океанах. М.: Наука, 1974. С. 143–153.

*A.I. Laktionov. DOM fluorescence research in the photic zone of the Black Sea waters.*

The DOM fluorescence of the sea water was investigated in the photic zone of the Black Sea. The fulfilled investigations of the spectra of excitation and fluorescence of DOM in the sea water samples demonstrated that the composition of fluorescent DOM changes with the depth and during the season.