

СВЕТОДИОДНЫЙ ФЛУОРИМЕТР СО СПЕКТРАЛЬНОЙ РЕГИСТРАЦИЕЙ

Глуховец Д.И.^{1,2}, Гольдин Ю.А.¹, Гуреев Б.А.¹, Венцкут Ю.И.¹

¹ *Институт океанологии им. П.П. Шириова РАН, 117997, г. Москва, Нахимовский пр., 36, 8(499)124-13-01, glukhovets@ocean.ru*

² *Московский физико-технический институт (ГУ), 117303, г. Долгопрудный Институтский пер., 9*

Recently a LED fluorimeter with spectral registration was designed. This paper is to show the description, the specifications, the first field experience and its comparison with other devices.

Изменчивость спектров флуоресценции морской воды – индикатор неоднородностей ее свойств [1, 2, 3]. Флуоресцентные измерения проводились в серии рейсов ИО РАН с помощью спектральных флуориметров с лазерным возбуждением в синей (401 нм) и зеленой (532 нм) областях спектра. Синий лазер позволяет получить информацию о спектре флуоресценции окрашенной части растворенного органического вещества (ОРОВ) и хлорофилла «а» (хл «а»), зеленый – о хл «а» и некоторых других пигментах фитопланктона. Недостаток используемых длин волн заключается в том, что они не позволяют исследовать флуоресценцию пигмента сине-зеленых водорослей фикоцианина. Этот пигмент – маркер присутствия в морской воде цианобактерий. Фикоцианин практически не поглощает свет в синей области, поэтому синий лазер неэффективен для его возбуждения. Возбуждение зеленым приводит к наложению полосы комбинационного рассеяния (КР) на молекулах воды (максимум на 650 нм) на полосу флуоресценции пигмента (максимум около 650 нм). Таким образом для исследования спектров флуоресценции дополнительных пигментов фитопланктона был создан спектральный флуориметр со смещенной длиной волны возбуждения, в котором в качестве источника возбуждения используется сверхяркий светодиод – светодиодный спектрофлуориметр СДСФ-1. В работе представлены описание конструкции, основные характеристики и результаты измерений, выполненных с помощью СДСФ-1 в 68-м рейсе НИС «Академик Мстислав Келдыш» (АМК), а также их сравнение с данными, полученными другими методами.

Оптическая схема прибора представлена на рис. 1. Прототип разработки – двухканальный лазерный спектрометр ЛС-2, [2, 3]. Главные отличия состоят в том, что в качестве источника возбуждающего излучения в приборе используется сверхяркий светодиод ХРЕВАМ-L1 с максимумом излучения на 595 нм и Longpass фильтр с границей полосы пропускания 625 нм. Полуширина линии излучения светодиода 25 нм; мощность излучения – 11 мВт. Для регистрации спектра флуоресценции используется малогабаритный спектрометр Ocean Optics USB4000. Измеренная интенсивность флуоресценции нормируется на амплитуду КР и измеряется в Рамановских единицах (Raman Units – RU). Относительная погрешность измерения интенсивности флуоресценции меньше 2%.

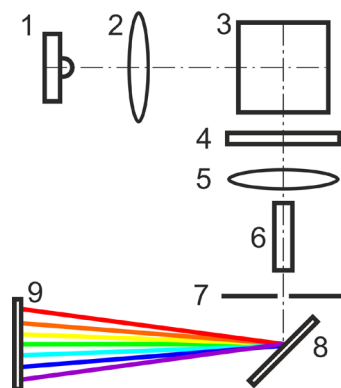


Рис. 1. Оптическая схема светодиодного флуориметра: 1 – сверхяркий светодиод, 2 – коллимирующая линза, 3 – кварцевая кювета, 4 – Longpass фильтр, 5 – собирающая линза, 6 – световод, 7 – входная щель, 8 – дифракционная решетка, 9 – фотодиодная линейка.

68-й рейс АМК, в котором выполнялись испытания прибора, проходил в западной Арктике. В районе работ цветение цианобактерий зарегистрировано не было. В тоже время в рейсе было выполнено значительное количество станций, где с помощью ЛС-2 измерялись спектры интенсивности флуоресценции (возбуждение 401 нм и 532 нм) и прямые определения концентрации хл «а» экстракционным методом.

Примеры зарегистрированных спектров представлены на рис. 2. Полосы с максимумами на 471 нм (рис. 2 слева), 651 нм (рис. 2 в центре) и 725 нм (рис. 2 справа) обусловлены КР; максимумы в области 680-685 нм соответствуют флуоресценции хл «а»; эти максимумы наложены

на длинноволновое крыло широкой полосы флуоресценции ОРОВ, которая наиболее сильно проявляется в синем канале. Ее максимум находится вблизи 500 нм (рис. 2 слева). Синей линией показаны результаты полиномиальной интерполяции полосы ОРОВ в областях наложения полос флуоресценции. Зеленые точки – входные данные для интерполяции. Резкий спад в левой части спектров, полученных при возбуждении 595 нм (рис. 3 справа), возникает из-за частичного прохождения излучения светодиода через интерференционный фильтр.

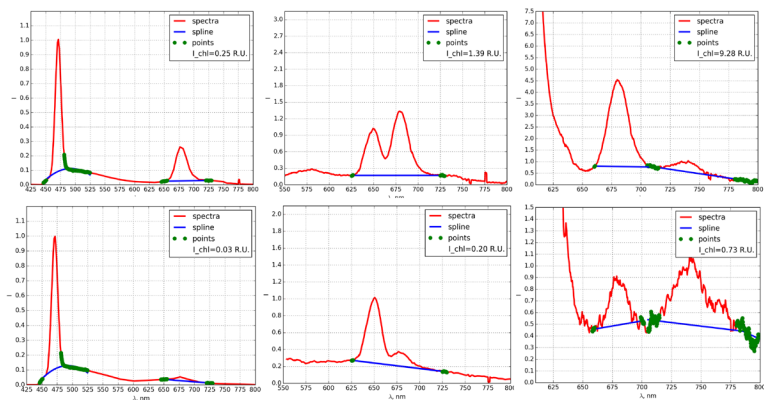


Рис. 2. Спектры флуоресценции проб морской воды при длине волны возбуждения: 401 нм (слева), 532 нм (в центре) и 595 нм (справа). Горизонты 15 м (сверху) и 36 м (снизу). Баренцево море. 16 августа 2017.

В светодиодном флуориметре флуоресценция возбуждается светом в оранжевой части спектра. Используемая длина волны поглощается многими пигментами фитопланктона [1], обеспечивает близость линий флуоресценции хл «а» и КР (что важно для процедуры нормировки) и позволяет регистрировать флуоресценцию фикоцианина без наложения его полосы на пик КР.

Интенсивность флуоресценции хлорофилла зависит не только от концентрации, но также от целого ряда факторов. В частности, связь интенсивности флуоресценции с концентрацией хлорофилла «а» варьируется для различных длин волн возбуждения. На рис. 3 показаны диаграммы рассеяния между интенсивностью флуоресценции хл «а» и его концентрацией, определенной экстракционным методом с помощью прибора «Turner», для 223 проб, отобранных и обработанных в 68-м

рейсе НИС «Академик Мстислав Келдыш». Наименьшая относительная ошибка (64%) наблюдается при возбуждении длиной волны 595 нм. Ее величина обусловлена учетом всей совокупности выполненных измерений – в различных регионах и на различных горизонтах.

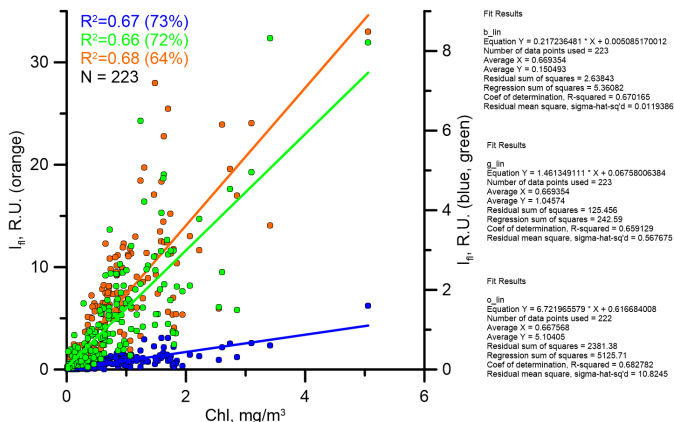


Рис. 3. Диаграммы рассеяния между интенсивностью флуоресценции хл «а» и его концентрацией. Точки – результаты измерений, прямые – результат линейной аппроксимации. Синий – возбуждение 401 нм, зеленый – 532 нм, оранжевый – 595 нм. В скобках – относительная ошибка измерений.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект №14-50-00095), предоставленного через Институт океанологии им. П.П. Ширшова РАН. Авторы выражают благодарность А.В. Лифанчук за предоставление данных прямых определений концентрации хл «а».

ЛИТЕРАТУРА

1. Карабашев Г.С. Флюоресценция в океане. Ленинград: Гидрометеоиздат, 1987. 200 с.
2. Гольдин Ю.А., Шатравин А.В., Левченко В.А., Венцук Ю.И., Гуреев Б.А., Копелевич О.В. Исследования пространственной изменчивости интенсивности флуоресценции морской воды в западной части Черного моря // *Фундаментальная и прикладная гидрофизика*. 2015. Т.8. № 1. С.17-26.
3. Глуховец Д.И., Гольдин Ю.А., Гуреев Б.А., Венцук Ю.И. Проточный лазерный флуориметр со спектральной регистрацией // *КИМР: оперативная океанография и экспедиционные исследования. Материалы молодежной научной конференции*. Севастополь: ФГБУН МГИ. С. 552-557.