

В.И. Южаков, В.В. Фадеев, С.В. Пацаева

ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА РАСТВОРЕННОГО ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА: ВЛИЯНИЕ УФ-ИЗЛУЧЕНИЯ НА СПЕКТРАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Обобщены экспериментальные результаты по исследованию воздействия непрерывного лампового УФ-излучения и импульсного лазерного излучения на спектры флуоресценции природного растворенного органического вещества (РОВ). Степень изменения спектров флуоресценции зависит как от дозы и спектрального состава излучения, так и от качественного состава пробы воды. Обсуждаются отличия воздействия УФ-облучения ламповым и лазерным источниками. Предложена модель фотохимических изменений РОВ под действием УФ-излучения.

Введение

Природное растворенное органическое вещество (РОВ) – один из наиболее важных компонентов водных экосистем. Оно содержит большую долю запаса органического углерода на Земле и играет ключевую роль в его кругообороте. Флуоресценция РОВ используется в качестве естественного индикатора при изучении гидрологических процессов.

Интерес к изучению воздействия солнечного и лазерного УФ-излучения на свойства РОВ, в том числе и на его спектральные характеристики, связан, по крайней мере, с двумя обстоятельствами: экологической проблемой, обусловленной деградацией озонового слоя в атмосфере Земли, и использованием лазеров УФ-диапазона для возбуждения флуоресценции РОВ при дистанционных измерениях.

В настоящей статье обобщены экспериментальные результаты по исследованию воздействия непрерывного лампового УФ-излучения и импульсного лазерного излучения на спектры флуоресценции природного РОВ [1–3]. Приведены также новые материалы, которые остались без внимания в предыдущих публикациях, и модельные представления о фотохимических процессах, происходящих в РОВ под действием УФ-излучения.

После облучения образцов непрерывным ламповым УФ-излучением спектры флуоресценции регистрировались на приборе <Jobin Yvon 3CS>, спектры поглощения – на спектрофлуориметре <Spexord M 40>.

Лазерный источник использовался одновременно для облучения пробы воды и возбуждения спектров флуоресценции. Лазерный флуориметр подробно описан в [1]. Образец помещался в кварцевую кювету диаметром 1 см и прокачивался перистальтическим насосом. Число лазерных импульсов N , попадающих в один и тот же объем пробы, варьировалось частотой повторения лазерных импульсов $f = 1 \dots 1000$ Гц и скоростью прокачки насоса (до 1 л/с).

Степень изменения спектров флуоресценции и при ламповом, и при лазерном облучении зависела как от дозы и спектрального состава излучения, так и от качественного состава пробы.

Влияние непрерывного лампового облучения на спектры флуоресценции РОВ

Влияние ультрафиолетового излучения на спектральные характеристики РОВ ранее рассматривалось в [4,5]. Авторы этих работ исследовали воздействие солнечного ультрафиолета и УФ-излучения ксеноновой лампы на спектры поглощения и флуоресценции РОВ в морской воде. Облучение морской воды непрерывным светом в спектральном диапазоне 290...340 нм в течение нескольких часов приводит к уменьшению интенсивности флуоресценции РОВ, уменьшению оптической плотности в области 290...340 нм и увеличению ее в области 340...390 нм. Облучение в спектральном диапазоне 340...390 нм приводит к обратному эффекту – возрастанию оптической плотности в области 290...340 нм и интенсивности флуоресценции. Величина эффекта составляет 20...30%. Спектры флуоресценции регистрировались при возбуждении азотным лазером на длине волны 337 нм. Предполагается, что изменение спектральных свойств определяется двумя процессами: фоторазложением РОВ и фотохимическими изменениями части РОВ [4,5].

Во время нашего эксперимента были исследованы изменения спектров возбуждения и испускания флуоресценции и спектры поглощения РОВ при облучении водных проб непрерывным излучением ртутной лампы типа ПРК-7. Пробы воды сначала облучались УФ-излучением лампы длительное время (до трех часов), а затем регистрировались спектры.

Пробы выделенного из воды Балтийского моря растворенного органического вещества естественного происхождения облучались равномерно по всему объему в сантиметровой кварцевой кювете. Различные диапазоны УФ-спектра выделялись фильтрами из оптического цветного стекла. Весь спектральный диапазон ртутной лампы делился на участки *A*, *B*, *C*, *V*, которым соответствовали полуширины полос пропускания комбинаций светофильтров. Диапазон *C* – до 300 нм, диапазон *B* – от 300 до 325 нм, диапазон *A* – от 325 до 390 нм и видимый диапазон *V*. Выделить из спектра диапазон *B* или *C* простой комбинацией светофильтров нельзя, поэтому в работе исследовалось влияние диапазонов *A + B + C*, *A + B* и *A* и по различным результатам воздействия были сделаны выводы о влиянии излучения в диапазонах *B* и *C* на спектральные свойства РОВ.

На основе анализа экспериментальных данных по воздействию УФ-излучения лампового источника на РОВ можно сделать следующие выводы.

1. Облучение проб воды всем спектральным диапазоном УФ-излучения всегда приводит к изменениям интенсивности флуоресценции природного РОВ, а в некоторых случаях – к изменению формы спектров и смещению максимума флуоресценции (рис. 1). На все спектральные характеристики РОВ УФ-излучение оказывает необратимое воздействие (время наблюдения за релаксацией пробы доходило до 3-х суток).

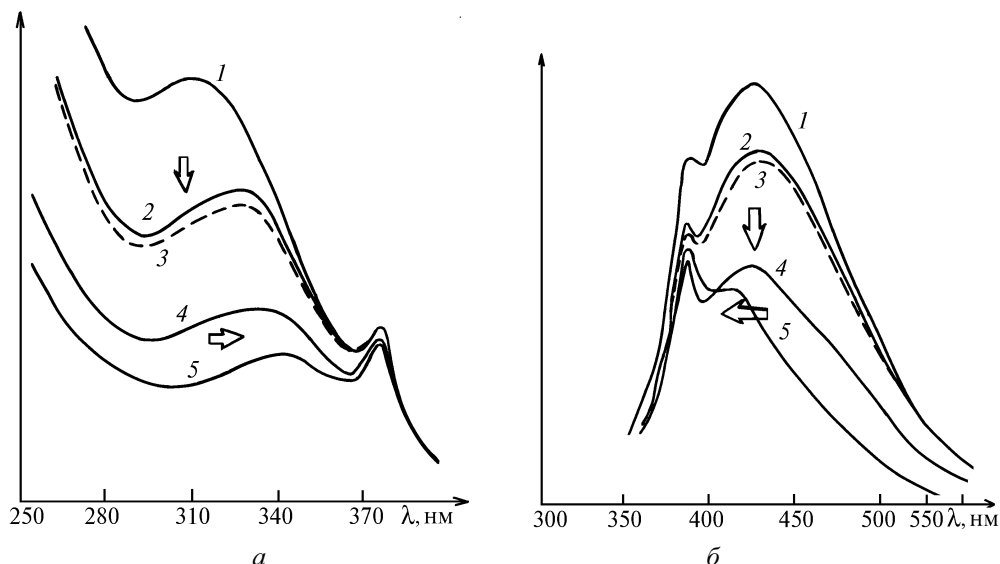


Рис. 1. Воздействие излучения ртутной лампы без светофильтров на спектры возбуждения (*a*) и испускания флуоресценции (*б*) природного растворенного органического вещества: 1 – исходная проба до облучения; 2 – 20 мин после облучения; 3 – через 3 суток «восстановления»; 4 – общее время облучения 105 мин; 5 – общее время облучения 165 мин

Эффект воздействия УФ-излучения необходимо принимать во внимание при мониторинге РОВ в природной воде.

2. Энергия излучения ртутной лампы ПРК-7 распределена между диапазонами *A*, *B*, *C* приблизительно равномерно, соответственно 18, 18, 20%. Однако наиболее сильное воздействие на спектры оказывает жесткое УФ-излучение с длиной волны менее 325 нм (диапазоны *B* и *C*). При облучении пробы диапазоном *C* максимум спектра возбуждения сдвигается в длинноволновую область на 15...25 нм, величина смещения зависит от времени облучения. При длительном воздействии в этом диапазоне максимум спектра испускания флуоресценции сдвигается в сторону коротких длин волн. Облучение в диапазоне *B* воздействует на спектры флуоресценции РОВ аналогично диапазону *C*, но с меньшей интенсивностью. Облучение в ближнем УФ-диапазоне *A* приводит к уменьшению интенсивности флуоресценции РОВ, но при этом изменений спектральной формы в спектрах возбуждения и испускания не происходит.

Излучение в видимом диапазоне, по нашим данным, как и в [4,5], не приводило к изменениям спектральных характеристик РОВ.

3. В экспериментах по изучению влияния УФ-облучения на РОВ не удалось обнаружить закономерности в поведении спектров поглощения и спектров флуоресценции. Это позволило предположить, что доля РОВ, обладающая люминесцентной способностью, вносит незначительный вклад в полосу поглощения всего РОВ.

Изменения полосы флуоресценции органических примесей в воде под действием лазерного УФ-излучения

Влияние импульсного излучения на спектры флуоресценции РОВ в воде исследовалось с помощью азотного лазера, который в настоящее время наиболее широко применяется для лазерной диагностики РОВ в технологических и природных водах [1,3].

Рассматривались следующие водные среды: дистиллированная вода с небольшим содержанием РОВ и водные растворы РОВ, выделенного из Балтийского моря, концентрация которого изменялась разбавлением пробы дистиллятом.

Полученные экспериментальные результаты сводятся к следующему:

1. Под действием лазерного УФ-излучения уменьшается интенсивность флуоресценции РОВ и смещается максимум спектра в сторону больших длин волн. Величина изменений зависит от общей дозы облучения, полученной данным объемом пробы. Под дозой облучения понимается величина $W = NE$, где N – число лазерных импульсов, попадающих в один и тот же объем пробы; $E = 0,16$ мДж – энергия одного лазерного импульса.

2. При максимальной скорости прокачки воды через кювету и частоте $f = 2,5$ Гц каждый лазерный импульс попадал в новый объем пробы ($N = 1$). Назовем пробу с $N = 1$ <невозмущенной> пробой.

3. $N = 1 \dots 30$. Форма спектра флуоресценции РОВ и положение его максимума практически не меняются. Интенсивность флуоресценции падает не больше чем на 10% относительно <невозмущенной> пробы (рис. 2).

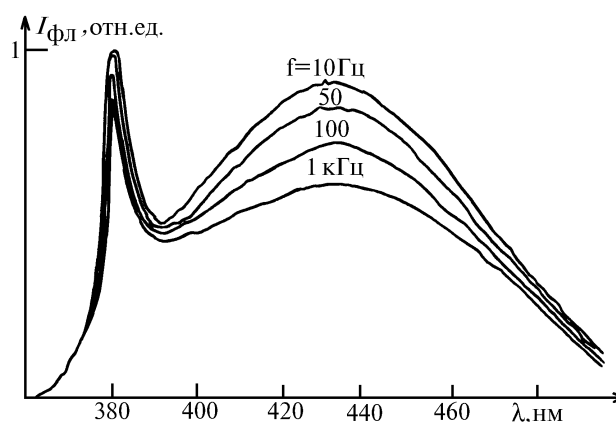


Рис. 2. Спектры флуоресценции РОВ в воде, полученные при различных значениях частоты повторения лазерных импульсов f

4. При дальнейшем увеличении числа лазерных импульсов N полоса флуоресценции смещается в длинноволновую область, а интенсивность флуоресценции падает на 10...50% относительно <невозмущенной> пробы (рис. 3).

5. Изменения спектров флуоресценции РОВ зависят как от дозы облучения УФ-светом, так и от качественного состава пробы. Для дистиллята форма спектра флуоресценции РОВ даже при большой дозе облучения изменяется слабее, чем для пробы РОВ в природной воде. Изменения формы спектров флуоресценции удобнее наблюдать при помощи разностных спектров, которые получаются вычитанием спектра <невозмущенной> пробы с $N = 1$ из спектра для произвольного N . Максимум разностного спектра для природного РОВ на рис. 4 сдвинут в область меньших длин волн по сравнению с исходным спектром флуоресценции (для дистиллята и для природного РОВ максимумы исходных спектров флуоресценции совпадают).

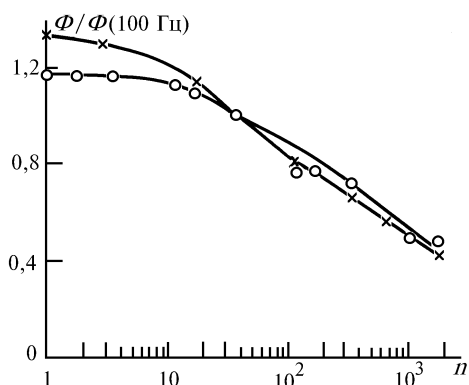


Рис. 3. Зависимость величины флуоресцентного параметра Φ , нормированного на значение Φ при 100 Гц, от числа лазерных импульсов N , попадающих в один и тот же объем пробы: + – дистиллированная вода, o – проба природного РОВ

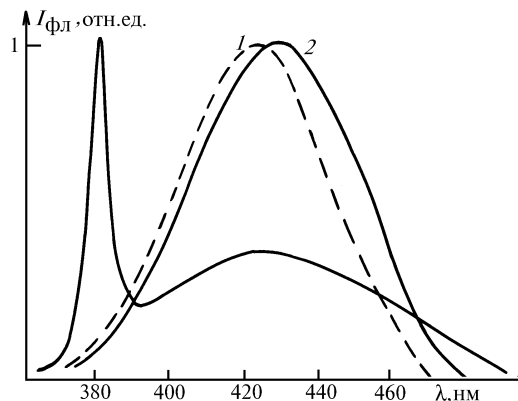


Рис. 4. Разностные спектры флуоресценции РОВ различных типов вод: 1 – дистиллированная вода, 2 – проба природного РОВ. Для сравнения приведен спектр флуоресценции РОВ в дистилляте. Все спектральные кривые нормированы на максимум полосы

6. Механизм релаксации люминесцентных свойств РОВ изучался в серии экспериментов, проведенных без прокачки исследуемой пробы. Чтобы общая доза, полученная пробой во всех экспериментах, была одинаковой, предварительно проба облучалась лазерными импульсами с частотой повторения 1 кГц в течение 5 мин (число импульсов порядка 300000). При этом интенсивность флуоресценции резко падает – на 50% относительно <невозмущенной> пробы. Затем регистрировались спектры флуоресценции при различных частотах повторения импульсов от 10 Гц до 1 кГц. Число импульсов, по которым накапливался спектр, было постоянным и равно 5000. Оказалось, что полученные таким образом спектры отличаются по интенсивности. При частоте повторения импульсов 10 Гц интенсивность была наибольшей и составляла 69% от интенсивности флуоресценции <невозмущенной> пробы. При частоте повторения 100, 500, 1000 Гц интенсивность составляла соответственно 57, 52 и 50%. Можно предположить, что существуют некоторые механизмы релаксации РОВ, характеризующиеся временами от 1 мс до 0,1 с (в соответствии с частотами повторения импульсов 1 кГц и 10 Гц).

7. Уменьшение дозы облучения пробы РОВ УФ-светом путем изменения плотности потока возбуждающего излучения (с помощью набора стеклянных светофильтров с известными значениями пропускания на длине волны возбуждения от 100 до 0,1%) приводит к росту флуоресцентного параметра Φ . Этот эффект связан с насыщением флуоресценции и для РОВ подробно рассмотрен в [3]. При этом форма полосы флуоресценции не изменяется за время регистрации спектров.

Эффект воздействия лазерного УФ-излучения необходимо учитывать при измерениях концентрации РОВ в воде люминесцентными методами с возбуждением спектров лазерным источником. Для уменьшения фото-химических эффектов необходимо прокачивать пробу воды через кювету флуориметра. Скорость прокачки воды зависит от частоты повторения лазерных импульсов.

Обсуждение полученных результатов

Основные отличия воздействия УФ-излучения на характеристики полосы флуоресценции РОВ с максимумом 420 нм для лампового и лазерного излучения могут быть сформулированы следующим образом:

Обратимость процессов. На все спектральные характеристики РОВ ламповое УФ-излучение оказывает необратимое воздействие. При облучении лазерным источником наряду с необратимыми существуют и обратимые изменения с временами релаксации от 1 мс до 0,1 с.

Изменения формы спектров. Максимальные изменения в спектрах флуоресценции вызывает ламповое УФ-излучение с длиной волны менее 325 нм, при этом наблюдаются уменьшение интенсивности флуоресценции, изменение формы спектров возбуждения, максимум испускания флуоресценции смещается в коротковолновую область после длительного воздействия. При лазерном УФ-облучении максимум спектров флуоресценции смещается в длинноволновую область,

интенсивность флуоресценции уменьшается. Степень воздействия зависит от дозы облучения (энергии импульса и длительности облучения) и от частоты повторения лазерных импульсов.

Суммируя приведенные выше экспериментальные факты, мы предлагаем следующую модель фотохимических превращений РОВ под действием УФ-излучения. При этом мы опираемся также на результаты дополнительных спектроскопических исследований РОВ, которые сформулированы в [3].

1. РОВ представляет собой большой набор органических молекул, различающихся по молекулярной массе, среди которых только небольшая часть способна люминесцировать. Данный тип флуорофоров (или люминесцирующих центров) обуславливает появление максимума на 310 нм в спектре возбуждения флуоресценции. Широкая бесструктурная полоса с монотонно возрастающей интенсивностью в сторону коротких длин волн обеспечивается континуумом органических молекул-сенситизаторов, которые передают энергию фотовозбуждения на флуорофоры. По-видимому, большая часть растворенного органического вещества не участвует в процессе переноса энергии фотовозбуждения.

2. При длительном УФ-облучении непрерывным ламповым источником пробы без перемешивания происходит фотодеструкция (<выжигание>) части РОВ, причем разрушению в большей степени подвержены молекулы, полоса поглощения которых совпадает со спектральным диапазоном воздействующего света. Это приводит к соответствующим изменениям в спектре возбуждения флуоресценции и уменьшению интенсивности полосы флуоресценции флуорофоров. При длительном облучении (порядка трех часов в нашем эксперименте) разрушается и часть флуорофорных молекул, поэтому наблюдаются изменения формы полосы флуоресценции РОВ и сдвиг максимума в сторону коротких длин волн. Все эти изменения необратимы.

3. При воздействии УФ лазерных импульсов происходит одновременно несколько процессов. Часть молекул-сенситизаторов и часть флуорофоров, по-видимому, разрушаются необратимо аналогично описанному выше эффекту воздействия непрерывного облучения. Другая же часть флуоресцирующих молекул претерпевает фотохимические изменения с временем релаксации порядка 0,01 с, что сравнимо с временем между двумя последующими лазерными импульсами.

При малой частоте повторения импульсов (до 50 Гц) данная часть молекул успевает <восстановиться>, и поэтому изменения интенсивности флуоресценции пробы РОВ по сравнению с <невозмущенной пробой> невелики и обусловлены только общей дозой, полученной данным объемом воды.

При частоте следования импульсов больше 50 Гц значительная часть флуорофоров, поглотивших УФ квант света, не успевает перейти в исходное состояние. Интенсивность флуоресценции уменьшается тем сильнее, чем больше частота повторения импульсов (см.рис. 2,3).

Наиболее вероятной причиной сдвига максимума полосы флуоресценции РОВ, по нашему мнению, является фотохимическая реакция с образованием новых флуоресцирующих центров. В качестве механизма такой реакции можно предложить, например, фотоперенос протона.

1. Пацаева С.В., Филиппова Е.М., Чубаров В.В., Южаков В.И. // Вестник Московского университета. Сер. 3. Физ. Астр. 1991. Т. 32. N 4. С. 76–80.
2. Пацаева С.В., Фадеев В.В., Филиппова Е.М., Чубаров В.В., Южаков В.И. // Вестник Московского университета. Сер. 3. Физ. Астр. 1991. Т. 32. N 6. С. 71–75.
3. Пацаева С.В., Фадеев В.В., Филиппова Е.М., Чубаров В.В., Южаков В.И. // Вестник Московского университета. Сер. 3. Физ. Астр. 1992. Т. 33. N 5. С. 38–42.
4. Екимов А.И., Самохина И.А., Тибиллов А.С. // Изв. АН СССР. Сер. ФАО. 1989. Т. 25. №1. С. 98–102.
5. Самохина И.А., Тибиллов А.С. // Изв. АН СССР. Сер. ФАО. 1989. Т. 25. N 2. С. 221–223.

Московский госуниверситет
им. М.В. Ломоносова

Поступила в редакцию
15 июля 1994 г.

V. I. Yuzhakov, V. V. Fadeev, S. V. Patsayeva. **Fluorescent Diagnostics of Dissolved Organic Matter: Influence of UV Irradiation on Fluorescence Spectra.**

This paper summarizes experimental results on study of natural dissolved organic matter (DOM) fluorescence spectra exposed to UV irradiation by continuous lamp source and pulsed laser source. The spectral changes caused by UV light depend on dose of irradiation and the spectral range as well as on water sample composition. The difference in UV lamp and laser source action on DOM is under consideration in this paper. Model of photo-chemical processes in DOM is suggested.