

15. Серов Н.Я., Фадеев В.В., Чекалюк А.М. // Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон. 1992. № 5. С. 48 (Moscow University Phys. Bull. 1992. No. 5. P. 44).
16. Фадеев В.В., Доленко С.А., Доленко Т.А. и др. // Квант. электроника. 1997. 24, № 6. С. 571.
17. Лакевич Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. М., 1986.
18. Тихонов А.Н., Дмитриев В.И., Гласко В.Б. Математические методы в разведке полезных ископаемых. М., 1983.
19. Тихонов А.Н., Арсенин В.Я. Методы решения некорректных задач. М., 1980.
20. Доленко Т.А., Козырева О.В., Попов К.Д. и др. // Тез. докл. Всерос. конф. «Физические проблемы экологии (Физическая экология)». М., 1997. Т. 2. С. 29.
21. Компьютеры в лаборатории / Под ред. А.В. Тихонравова. М., 1992.
22. Lippman R.P. // IEEE ASSP Mag. 1987. 3, No. 2. P. 4.
23. Orlov Yu.V., Rebrik S.P., Persiantsev I.G., Babichenko S.M. // Proc. SPIE. 1995. 2503. P. 150.
24. Tzeng Y.C., Chen K.S., Kao W.-L., Fung A.K. // IEEE Trans. Geosci. Remote Sensing. 1994. 32. P. 1096.
25. Dolenko S.A., Dolenko T.A., Fadeev V.V. et al. // Proc. Conf. on Adaptive Computing in Design and Manufacture. Plymouth, UK, Apr. 1998. P. 54.
26. Filippova E.M., Boichuk I.V., Dolenko T.A., Fadeev V.V. // Proc. 3-rd EARSel Workshop on Lidar Remote Sensing of Land and Sea. Tallinn, Estonia, 1997. P. 51.
27. Fadeev V.V., Rubin G.L., Uvenkov Ya.V. // Ibid. P. 133.
28. Chubarov V.V., Fadeev V.V., Glushkov S.M. // Ibid. P. 163.
29. Брагинская О.В. // Дис... канд. физ.-мат. наук. М. (МГУ, физ. ф-т), 1984.
30. Баулин Е.В., Фадеев В.В. // Изв. АН СССР, ФАО. 1985. № 1. С. 105.

УДК 575.372

ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ — КОМПОНЕНТОВ ПРИРОДНОГО РАСТВОРЕННОГО ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА

К. Г. Евсюхина, С. В. Пацаева, В. И. Южаков

Изучены спектрально-люминесцентные свойства соединений, являющихся химическими аналогами природных компонентов растворенного органического вещества пресных водоемов. Исследованы следующие соединения в водных растворах различной концентрации: ароматические аминокислоты тирозин, фенилаланин и триптофан, гидрохинон и галловая кислота. Получены зависимости спектров поглощения и люминесценции от величины рН раствора.

Введение

Работа посвящена изучению спектральных характеристик простейших компонентов природного растворенного органического вещества. В спектрах флуоресценции природной воды при возбуждении светом с длиной волны меньше 270 нм проявляются две полосы. УФ-полоса имеет максимум в области 300–350 нм и в научной литературе ассоциируется с флуоресценцией белковоподобных соединений [1–3]. Вторая полоса имеет максимум люминесценции в синей области и обусловлена гумусовыми соединениями природной воды [4, 5].

Однако, как показали предыдущие исследования, проведенные в нашей лаборатории, не только белки и ароматические кислоты вносят вклад в формирование УФ-полосы люминесценции воды из естественных водоемов, но также фенолы и полифенольные соединения, такие как танин и лигнин.

Исследование флуоресценции фенольных соединений и ароматических аминокислот различной кон-

центрации поможет оценить вклад различных классов химических соединений в полосу люминесценции природной воды. Изучение влияния кислотности водного раствора на электронные спектры соединений, входящих в состав сложных природных комплексов, будет полезным в исследовании биологических молекулярных систем с водородной связью и с переносом протона.

Методика и объекты исследования

Были изучены следующие вещества: гидрохинон, галловая кислота (3,4,5-тригидроксибензойная кислота), а также ароматические аминокислоты — тирозин, триптофан и фенилаланин.

Для приготовления растворов использовалась тщательно очищенная от примесей вода; критерием чистоты являлось отсутствие люминесценции. Величина рН растворов изменялась путем добавления небольших количеств водных растворов соляной кислоты и гидроксида калия, которые в изучаемой области (200–500 нм) не имеют заметной люминесцен-

ции. Степень кислотности растворов контролировали с помощью рН-метра марки рН-340.

Измерение спектров поглощения проводилось на спектрофотометре Specord M-40 (ГДР).

Спектры возбуждения и испускания люминесценции измерялись на спектрофлуориметре Jobin Yvon 3CS (Франция). Значения квантового выхода рассчитывались относительным методом по величине площади под спектром люминесценции раствора и величине поглощения на длине волны возбуждения. Квантовые выходы всех растворов находились относительно раствора триптофана ($C = 5$ мг/л), квантовый выход которого считался равным 0,20 [6, 7].

Экспериментальные результаты и их обсуждение

Ароматические аминокислоты. Белки содержат три аминокислотных остатка, которые могут давать вклад в УФ-флуоресценцию — тирозин, триптофан и фенилаланин. Эти ароматические аминокислоты обладают системой делокализованных π -электронов в ароматических ядрах и поглощают свет в области длин волн 240–300 нм.

Измеренные в работе значения максимумов спектра поглощения (λ_{max}^{abs}) и спектра люминесценции (λ_{max}^{Π}), а также экстинкция (e) и относительный квантовый выход (B_{rel}) для нейтральных водных растворов всех исследованных ароматических аминокислот приведены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1

Спектрально-люминесцентные характеристики водных растворов ароматических аминокислот

Аминокислоты	λ_{max}^{abs} , нм	$\epsilon \cdot 10^{-3}$, л/(моль·см)	λ_{max}^{Π} , нм	B_{rel} ($\lambda_{exc} = 220$ нм)
Фенилаланин	210	10	285	0,06
Тирозин	222	6,8	305	0,22
	275	1,3		
Триптофан	220	40	355	0,20
	285	8		

Спектры поглощения и люминесценции аминокислот приведены на рис. 1. Не было обнаружено существенной зависимости формы спектральных кривых и положения максимумов от концентрации аминокислот в исследуемом диапазоне (1–100 мг/л).

Флуоресценция большинства белков вызывается в первую очередь триптофановыми остатками, индольные кольца которых являются уникально чувствительными и сложными флуорофорами. Свечение фенилаланина определяется бензольным кольцом. По литературным данным [6, 7], квантовый выход фенилаланина составляет всего 0,04. Наши экспериментально полученные значения квантового выхода (см. табл. 1) находятся в хорошем соответствии с литературными данными. Спектр испускания триптофана определяется индольным кольцом; квантовый

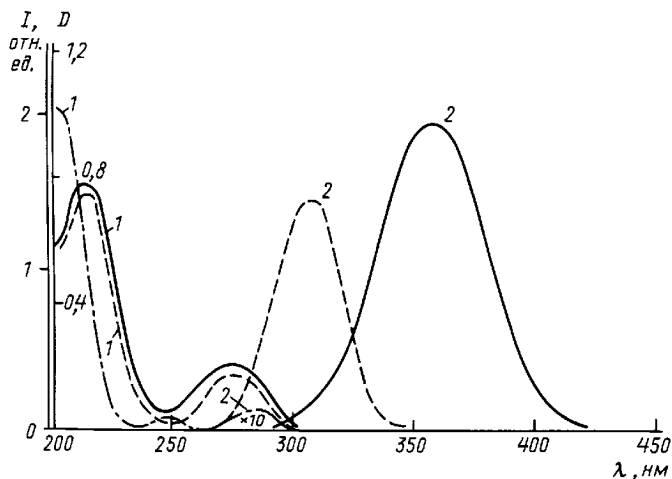


Рис. 1. Спектры поглощения (1) и флуоресценции (2) водных растворов аминокислот: триптофана ($C = 5$ мг/л, $\lambda_{exc} = 266$ нм) — сплошные линии; тирозина ($C = 20$ мг/л, $\lambda_{exc} = 266$ нм) — штриховые и фенилаланина ($C = 20$ мг/л, $\lambda_{exc} = 220$ нм) — штрих-пунктирные

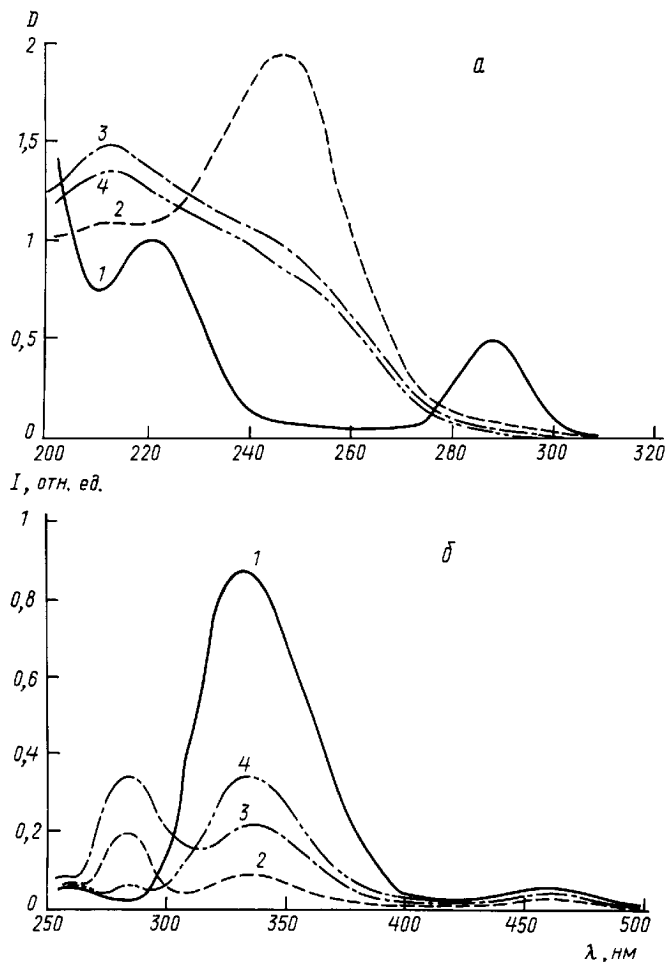


Рис. 2. Спектры поглощения гидрохинона ($C = 20$ мг/л) — а и флуоресценции ($C = 5$ мг/л, $\lambda_{exc} = 230$ нм) — б при разных рН раствора (первая схема): 1 — чистый раствор, 2 — рН 10, 3 — рН 7 (обратный ход), 4 — рН 3 (обратный ход)

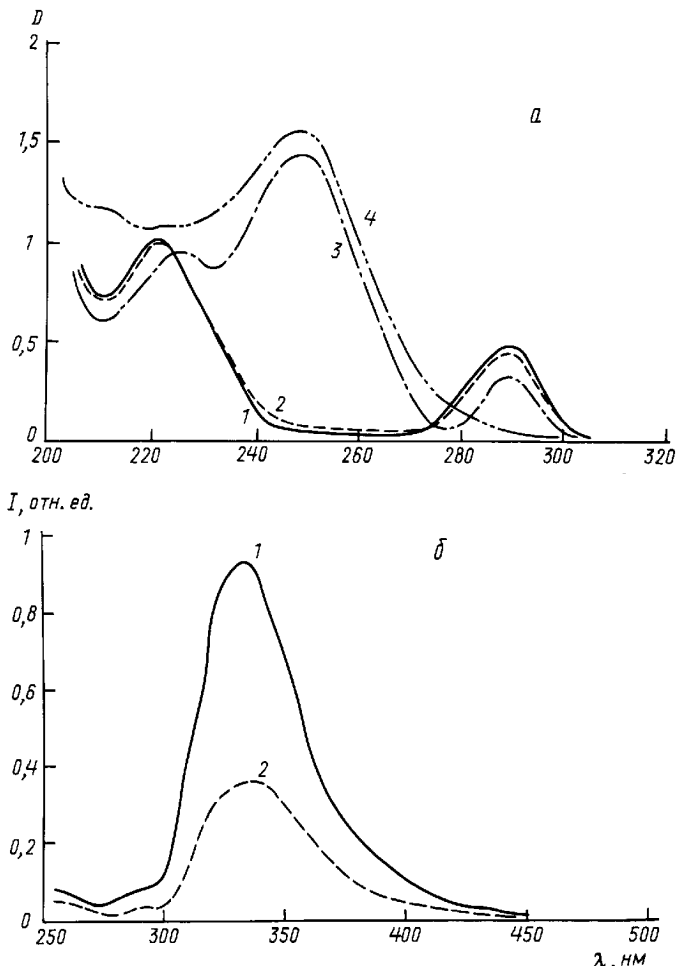


Рис. 3. Спектры поглощения гидрохинона ($C = 20$ мг/л) — а и флуоресценции ($C = 5$ мг/л, $\lambda_{\text{ex}} = 230$ нм) — б при разных рН раствора (вторая схема): 1 — чистый раствор, 2 — рН 3, 3 — рН 7 (обратный ход), 4 — рН 10 (обратный ход)

выход в нейтральном водном растворе равен 0,20, что в два раза меньше, чем у индола [6, 7]. Спектр испускания тирозина определяется фенольным кольцом.

Для раствора тирозина кроме зависимости спектров люминесценции от концентрации были также исследованы их зависимости от значения рН раствора. Оказалось, что форма спектров испускания и положение максимумов не зависят от значения рН во всем исследованном диапазоне (рН 2÷10). Измеренный нами квантовый выход для нейтрального раствора тирозина составляет 0,22. В кислой среде (рН 2,8) квантовый выход становится почти в 2 раза больше по сравнению с нейтральной. В щелочной среде на квантовый выход фенола и его производных, в частности тирозина, основное влияние оказывает ионизация ОН-группы, приводящая к тушению флуоресценции, и определенный нами квантовый выход тирозина уменьшается до 0,16.

Отметим, что флуоресценция тирозина может быть потушена близко расположенными карбоксильными группами или незаряженными аминогруппами [6, 7]. Такое тушение связано с переносом протона

Т а б л и ц а 2

Спектрально-люминесцентные характеристики водных растворов гидрохинона и галловой кислоты

Соединение	рН	$\lambda_{\text{max}}^{\text{abs}}$, нм	$\epsilon \cdot 10^{-3}$, л/(моль·см)	$\lambda_{\text{max}}^{\text{fl}}$, нм	B_{rel} ($\lambda_{\text{exc}} = 266$ нм)
Гидрохинон	7	221	5,1	330	0,67
		287	2,9		
	10	221	—	330	0,24
		245	—	290	
	7 (обратный ход)	214	—	330	0,21
		290	—	—	
5 (обратный ход)	—	—	—	0,20	
	3	221	5,1		330
Галловая кислота	7	212	21,4	350	0,11
		260	7,1	390	
	10	212	15,2	360	—
		285	7,3	400	
	3	212	18,6	360	—
		272	8,2	390	

на эти акцепторы протонов в течение времени жизни возбужденного состояния, что было доказано при изучении флуоресценции сополимеров тирозин-глутамат и тирозин-лизин [8, 9]. Механизм тушения может включать перенос протона от фенола либо в основном, либо в возбужденном состоянии [10].

Гидрохинон и галловая кислота. В качестве фенольных соединений, представляющих химические аналоги простейших компонентов природного растворенного органического вещества, нами были изучены гидрохинон и галловая кислота.

Спектрально-люминесцентные характеристики растворов гидрохинона и галловой кислоты, экспериментально измеренные для концентраций растворов $C = 5$ мг/л, приведены в табл. 2.

Галловая кислота представляет собой структурное звено таких природных полимеров, как танин и лигнин, и является продуктом распада природного растворенного органического вещества естественных водоемов.

Исследование спектральных характеристик растворов с различными значениями рН проводилось двумя способами. В первом случае величина рН растворов сначала увеличивалась до 9–10 путем добавления щелочи, а затем уменьшалась до нейтрального или до значения рН 3. Во втором случае рН раствора сначала снижали добавлением кислоты до 3–4, а потом увеличивали до нейтрального или до более высоких значений рН (8–9), чтобы наблюдать

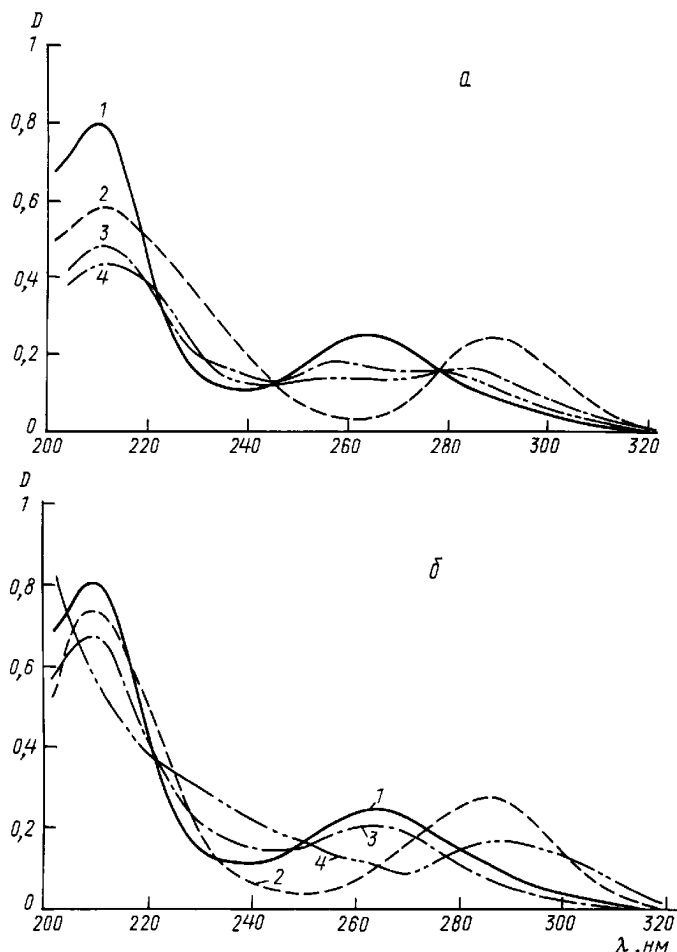


Рис. 4. Спектры поглощения галловой кислоты ($C = 5$ мг/л) при разных pH раствора: а — первая схема, 1 — чистый раствор, 2 — pH 10, 3 — pH 7 (обратный ход), 4 — pH 3 (обратный ход); б — вторая схема, 1 — чистый раствор, 2 — pH 3, 3 — pH 7 (обратный ход), 4 — pH 10 (обратный ход)

обратимость процессов, происходящих при изменении кислотности раствора.

Зависимость спектров поглощения и флуоресценции гидрохинона от pH раствора приведена на рис. 2, 3. При увеличении pH раствора до 10 в спектрах люминесценции и поглощения гидрохинона появляются новые максимумы, а квантовый выход люминесценции падает (см. табл. 2). Уменьшение кислотности раствора гидрохинона до pH 2,5 не приводит к заметным изменениям формы спектров поглощения и испускания. Значение квантового выхода люминесценции уменьшается от значения 0,67 в нейтральной среде до 0,42 в кислой.

Спектры поглощения водных растворов галловой кислоты ($C = 5$ мг/л) в зависимости от pH, менявшегося по первой и второй схеме, приведены на рис. 4. В спектре поглощения нейтрального раствора галловой кислоты присутствуют два максимума — при $\lambda = 212$ и 260 нм, интенсивности которых относятся

как 1:0,3 соответственно. В щелочной среде (pH 10) в спектре поглощения появляется новый максимум при $\lambda = 285$ нм. В спектрах поглощения при разных pH наблюдаются две изобестические точки: при $\lambda = 245$ и 273 нм. Если подкислять нейтральный раствор, длинноволновый максимум в спектре поглощения смещается в «красную» сторону до $\lambda = 272$ нм.

В спектре испускания нейтрального раствора наблюдается максимум при $\lambda = 350$ нм с плечом при $\lambda = 390$ нм, отношение интенсивностей которых составляет 1:0,5. В спектре возбуждения им соответствуют два максимума при $\lambda = 268$ и 246 нм соответственно. Этот факт говорит о том, что в нейтральном растворе галловой кислоты присутствуют две различные формы. При изменении кислотности водного раствора галловой кислоты в спектрах флуоресценции происходят обратимые изменения, не зависящие от порядка проведения эксперимента. И в кислой (pH 3) и в щелочной (pH 10) средах основной максимум флуоресценции при $\lambda = 390$ нм сдвигается на 10 нм в длинноволновую сторону. Кроме того, соотношение интенсивностей флуоресценции на $\lambda = 350$ и 390 нм в кислой среде составляет 1:2,5, а в щелочной — 1:0,8.

Выводы

В УФ-полосу флуоресценции природной воды могут давать вклад изученные в работе аминокислоты и фенольные соединения. Необратимость процессов, происходящих в водных растворах этих соединений при изменении pH, необходимо учитывать при интерпретации спектров поглощения и испускания природного растворенного органического вещества.

Литература

1. Coble P.G., Green S.A., Blough N.V., Gagosian R.B. // Nature. 1990. **348**. P. 432.
2. Mopper K., Schultz C.A. // Marine Chemistry. 1993. **41**. P. 229.
3. Determann S., Reuter R., Willkomm R. // Deep-Sea Res. 1994. **41**. P. 659.
4. Kalle K. // Oceanography and Marine Biology Annual Rev. 1966. **4**. P. 91.
5. Пацаева С.В., Фадеев В.В., Филиппова Е.М. и др. // Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон. 1991. №6. С. 71 (Moscow University Phys. Bull. 1991. No. 6. P. 66).
6. Баренбойм Г.М., Доманский А.Н., Туроверов К.К. Люминесценция биополимеров и клеток. М; Л., 1966.
7. Владимиров Ю.А. Фотохимия и люминесценция белков М., 1965.
8. Беллами Л. Новые данные по ИК-спектрам сложных молекул. М., 1971.
9. Бранд Дж., Эглинтон Г. Применение спектроскопии в органической химии. М., 1967.
10. Паркер С. Фотолюминесценция растворов. М., 1972.