

УДК 551.46.086

© О. Б. Кудинов*, М. Е. Ли, 2023

Морской гидрофизический институт РАН, ул. Капитанская, д. 2, Севастополь, 299011.

*kudinov_ob@mhi-ras.ru

РЕГИСТРАЦИЯ ФЛЮОРЕСЦЕНЦИИ ФИТОПЛАНКТОНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЗОНДИРУЮЩЕГО ИЗМЕРИТЕЛЯ

Поступила в редакцию 17.04.2023, после доработки 28.09.2023, принята в печать 20.11.2023

Аннотация

Дано описание основных оптических характеристик фитопланктона и окрашенного растворённого органического вещества. Обоснована необходимость одновременной регистрации флюоресценции пигментов фитопланктона и окрашенного растворённого органического вещества в морской воде *in situ*. Рассмотрены коммерческие приборы регистрации, осуществляющие регистрацию сигналов интенсивности флюоресценции фитопланктона *in situ*. В данной работе представлен разработанный экспериментальный зондирующий автономный многоканальный измеритель флюоресценции и рассеяния света в морской воде (ФР-1). В работе представлена функциональная схема разработанного измерителя, дано описание его основных узлов и принципов его работы. Разработанный измеритель позволяет квазисовместно регистрировать большой набор параметров: спектры возбуждения флюоресценции фитопланктона, интенсивности флюоресценции пигментов фитопланктона (хлорофилл-*a*, фикоэритрина, фикоцианина, β -каротина), а также интенсивность флюоресценции окрашенного растворённого органического вещества и спектры показателя рассеяния света под углом 90°. Регистрация всех указанных параметров осуществляется из одного измерительного объёма, где в процессе зондирования в каждый конкретный момент времени находится одна и та же композиция взвешенного вещества. Представлены результаты апробации разработанного измерителя и предложено направление дальнейших исследований с его использованием.

Ключевые слова: флюоресценция, фитопланктон, пигменты, хлорофилл-*a*, ОРОВ, показатель рассеяния, флуориметр, измеритель, зонд, модуль, спектр

UDC 551.46.086

© О. Б. Kudinov, M. E. Lee, 2023

Marine Hydrophysical Institute, Russian Academy of Sciences, 2 Kapitanskaya Str., Sevastopol, 299011, Russia

*kudinov_ob@mhi-ras.ru

REGISTRATION OF PHYTOPLANKTON FLUORESCENCE USING AN EXPERIMENTAL SOUNDING PROBE

Received 17.04.2023, Revised 28.09.2023, Accepted 20.11.2023

Abstract

The main optical characteristics of phytoplankton and colored dissolved organic matter are described. The necessity of simultaneous registration of fluorescence of phytoplankton pigments and colored dissolved organic matter in seawater *in situ* is substantiated. Commercial recording devices, realizing registration of signals of phytoplankton fluorescence intensity *in situ*, are considered. This paper presents the developed experimental probing autonomous multichannel meter of fluorescence and light scattering in seawater (FR1). The paper presents the functional scheme of the developed meter, describes its main assemblies and principles of its operation. The developed meter allows quasi-simultaneous registration of a large set of parameters: excitation spectra of phytoplankton fluorescence, fluorescence intensity of phytoplankton pigments (chlorophyll-*a*, phycoerythrin, phycocyanin, β -carotene), as well as fluorescence intensity of colored dissolved organic matter and spectra of light scattering index at an angle of 90°. Registration of all these parameters is carried out from one measuring volume, where the same composition of suspended matter is located in the process of probing at each specific moment of time. The paper presents the results of approbation of the developed meter and suggests the direction of further research using it.

Keywords: fluorescence, phytoplankton, pigments, chlorophyll-*a*, CDOM, scattering index, fluorimeter, meter, probe, module, spectrum

Ссылка для цитирования: Кудинов О.Б., Ли М.Е. Регистрация флюоресценции фитопланктона с использованием экспериментального зондирующего измерителя // Фундаментальная и прикладная гидрофизика. 2023. Т. 16, № 4. С. 116–128. doi:10.59887/2073-6673.2023.16(4)-10

For citation: Kudinov O.B., Lee M.E. Registration of Phytoplankton Fluorescence Using an Experimental Sounding Probe. *Fundamental and Applied Hydrophysics*. 2023, 16, 4, 116–128. doi:10.59887/2073-6673.2023.16(4)-10

1. Введение

Одними из наиболее трудных и важных проблем, с которыми сталкиваются большинство современных приморских регионов, являются проблемы охраны окружающей среды и создание эффективных способов мониторинга и прогноза состояния вод Мирового океана. Учитывая особенности отдельно взятых акваторий, увеличение антропогенного воздействия на экосистему приводит к специфическим последствиям: к возможной прогрессирующей эвтрофикации, снижению концентрации кислорода, в развитии вредоносных водорослей, появлении инвазивных видов, увеличению радиационного фона. В этой связи мониторинг состояния абиотических и биотических характеристик морской экосистемы, осуществляемый с помощью комплекса наблюдательных систем, поиск путей управления биологической продуктивностью океана, а также разработка новых методов океанологических исследований являются важными составляющими современной океанологии и экологии.

Основным чувствительным к изменениям компонентом водных экосистем является фитопланктон — одноклеточные микроводоросли, не способные оказывать сопротивление течению, обитающие поодиночке или в колониях, имеющих вид цепочек, нитей или шаров. Размеры клеток фитопланктона варьируются от 0,02 до 1000 мкм [1]. Фитопланктон представляет собой таксономически разнообразную группу, состоящую из более чем десяти тысяч видов и таксонов. К нему также относятся цианобактерии, другое их название — сине-зелёные водоросли, а также зелёные серные бактерии. Фитопланктон продуцирует первичную продукцию [2] и сам является первичным звеном в трофической цепи, обуславливая биопродуктивность акваторий. Он также обладает высокой чувствительностью к присутствию загрязнителей в окружающей среде, а также к изменениям климата и светового режима [3]. Фитопланктон выступает в роли биосорбента, поглощающего радиоактивные нуклиды, приводя к очищению загрязнённого радиацией водоёма [4, 5]. Фитопланктон и продукты его жизнедеятельности являются одними из основных первичных гидрооптических компонентов, характеризующих оптические свойства вод [5]. Фитопланктон, в большинстве случаев, является фотоавтотрофом, т. е. организмом, синтезирующим органические соединения из неорганических, используя для этого энергию поглощённых квантов света (фотосинтез), поэтому он обитает в верхнем эвфотическом слое Мирового океана, на глубинах не более 200 м. Клетки фитопланктона содержат пигменты, участвующие в процессе фотосинтеза.

Основные пигменты фитопланктона: хлорофиллы (Хл-*a*, -*b*, -*c1*, -*c2*); фикобилины — фикоэритрин (ФЭ) и фикоцианин (ФЦ); каротины (напр. β -каротин); ксантофиллы (напр. фукоксантин, перидинин, диатиноксантин); бактериохлорофиллы (БХл-*a*, -*b*).

Пигменты подразделяются на фотосинтезирующие и фотопротекторные [7]. Фотосинтезирующие используют энергию поглощённых квантов света для фотосинтеза, вторые поглощают избыточную световую энергию, защищая клетку. Фотопротекторные пигменты не испускают флюоресцентное излучение. Избыточная энергия частично испускается в виде теплового излучения и частично передаётся на молекулы хлорофилла для излучения в виде флюоресценции. Содержание фотосинтезирующих пигментов не постоянно и варьируется в зависимости от сезона, условий внешней среды, фазы жизненного цикла [8]. Хлорофилл-*a* является основным фотосинтезирующим пигментом. Его содержание в клетке, по отношению к другим пигментам, у большинства таксонов, превышает 90 %. Именно поэтому Хл-*a* является важнейшим параметром, который используется для оценки биомассы фитопланктона, для расчёта первичной продукции океанов и морей.

Основными оптически регистрируемыми параметрами пигментов фитопланктона является поглощение и излучение света. Поглощение световой энергии пигментами осуществляется избирательным образом и зависит от молекулярной структуры конкретного пигмента. Хлорофиллы имеют два максимума поглощения: в красной 650–700 нм и синей области спектра 380–480 нм, как и БХл с диапазонами 320–470 нм и 630–800 нм, соответственно. Фикоэритрин имеет один максимум поглощения в зелёной: 490–570 нм области спектра и фикоцианин — в оранжево-красной: 600–640 нм. Каротины могут выполнять несколько функций: поглощают в синей области спектра (400–500 нм), передают часть поглощённой энергии на молекулы хлорофилла, принимают участие в фототаксисе [9]. Ксантофиллы относятся к фотопротекторным пигментам и также поглощают свет в синей области спектра. Излучение световой энергии пигментами осуществляется в процессе фотосинтеза. Спектры флюоресценции являются важным детектируемым параметром, служащим для определения концентрации того или иного пигмента. В табл. 1 на основе данных из литературных источников [10, 19] представлены максимумы поглощения и флюоресценции основных пигментов фитопланктона. По концентрации пигментов в клетке фитопланктона возможно определить её принадлежность к конкретному отделу [11], т. к. разные отделы фитопланктона имеют различное содержание фотосинтетических пигментов [10, 12].

Таблица 1

Table 1

Максимумы поглощения и флюоресценции основных пигментов фитопланктона [10, 19]

Absorption and fluorescence maxima of main pigments of phytoplankton [10, 19]

Наименование пигмента	Максимумы поглощения в 100 % ацетоне, нм	Максимумы флюоресценции, нм
Хл- <i>a</i>	430; 662	680–685
Хл- <i>b</i>	457; 645,5	653 (в ацетоне)
Хл- <i>c1</i>	446; 578–629	633; 694 (в ацетоне)
Хл- <i>c2</i>	449; 581–629	635; 696 (в ацетоне)
β-каротин	454–480	530
Фикоцианин	610–635 (Водный экстракт)	634–641
Фикоэритрин	495–560 (Водный экстракт)	580–587
Бхл- <i>a</i>	358; 769	907–915
Бхл- <i>b</i>	368; 407; 582; 795	1040
Бхл- <i>c</i>	433; 663	775

Основные методы современного биомониторинга акваторий сосредоточены на определении «биооптических характеристик», к которым относятся: спектральное поглощение океанской воды, поглощение растворённым органическим веществом (РОВ) и детритом, показатель рассеяния назад взвешенными частицами и концентрация Хл-*a* [13]. При этом спутниковые методы биооптических наблюдений в основном сконцентрированы на приповерхностном слое морской воды [14]. Тогда как вертикальная структура распределения этих параметров, а также пигментов фитопланктона, их сезонная и межгодовая изменчивость изучена недостаточно [15–18]. Спектральное поглощение океанской воды складывается из суммы показателей поглощения чистой воды $\kappa_{\text{ЧВ}}(\lambda)$, фитопланктона $\kappa_{\text{ПФ}}(\lambda)$, растворённого органического вещества $\kappa_{\text{РОВ}}(\lambda)$, минеральной взвеси $\kappa_{\text{МВ}}(\lambda)$ и детрита $\kappa_{\text{Д}}(\lambda)$:

$$\kappa(\lambda) = \kappa_{\text{ЧВ}}(\lambda) + \kappa_{\text{ПФ}}(\lambda) + \kappa_{\text{РОВ}}(\lambda) + \kappa_{\text{МВ}}(\lambda) + \kappa_{\text{Д}}(\lambda).$$

Показатель поглощения минеральными частицами очень мал и их вкладом в общее поглощение обычно пренебрегают. А суммарное поглощение детритами и РОВ рассматривают совместно. При этом поглощение РОВ имеет доминирующее значение. Таким образом, показатель поглощения морской водой определяется тремя составляющими: чистой водой, растворённым органическим веществом и фитопланктоном. При этом переменными являются только две из них — фитопланктон и РОВ [20].

Традиционным методом анализа фитопланктона *in situ* в различных акваториях является метод контактного зондирования, основанный на измерении интенсивности флюоресценции (ИФ) пигментов фитопланктона, который позволяет оперативно получать информацию о его вертикальном распределении до глубин, недоступных другим методам. Основными параметрами, обуславливающими регистрацию ИФ пигментов фитопланктона, являются их спектральные диапазоны поглощения и излучения флюоресценции, внутриклеточная композиция пигментов и их количественное соотношение. Однако зависимость ИФ фитопланктона от концентрации конкретного пигмента непостоянна и зависит от множества факторов, таких как: климатическая зона, сезон, типа водоёма, условий роста клеток, таксономический состав, их физиологическое состояние, возраст, условия глубинной освещённости, минеральная обстановка, а также концентрация РОВ, которое поглощает свет в том же спектральном диапазоне, что и хлорофиллы. Поэтому при оценке концентраций Хл-*a* флюоресцентным методом необходимо делать соответствующую коррекцию.

РОВ — включает в себя белки, аминокислоты [21], нуклеиновые кислоты, фенолы, гуминовые соединения и некоторые пигменты [22]. Концентрация РОВ в морской воде варьируется от количества и частоты осадков, обилия речного стока, а также от антропогенного воздействия [23, 24]. Оптические свойства РОВ мало отличаются для различных акваторий [25]. Оптически измеряемым компонентом РОВ в воде является окрашенное РОВ — ОРОВ (*англ.* colored dissolved organic matter — CDOM) которое представляет собой наиболее стойкую фракцию молекул [26]. Флюоресцирующая часть ОРОВ (*англ.* fDOM), также известна как хромофорное растворенное органическое вещество, или жёлтое вещество (ЖВ). Жёлтое вещество составляет от 60 до 90 % от общего содержания РОВ в морской воде [27]. ЖВ поглощает в ультрафиолетовой и синей областях спектра. Содержание ЖВ позволяет судить о биологической продуктивности, экологической чистоте и о внутренней динамике исследуемых акваторий [28]. РОВ в морской воде уменьшает интенсивность света, проникающего в воду. Очень высокие концентрации РОВ могут оказывать угнетающее

влияние на фотосинтез фитопланктона и ингибировать его рост. Но также РОВ поглощает вредное УФ излучение, защищая клетки микроводорослей от повреждения. ИФ ОРОВ может быть зарегистрирована из космоса, с использованием спутников дистанционного зондирования.

В настоящее время разрабатываются методы повышения точности оценки концентрации Хл-*a* по данным спектральных измерений флюоресценции [29]. У современных коммерческих флюориметров в дополнение к стандартному каналу регистрации Хл-*a*, появляются дополнительные каналы, направленные на регистрацию ИФ других фотосинтезирующих пигментов фитопланктона, а также РОВ, мутности, фотосинтетически активной радиации (ФАР), концентрации растворённого кислорода. Дополнительные данные позволяют производить коррекцию концентрации Хл-*a* на нефотохимическое тушение [30, 31], получать информацию о физиологическом состоянии фитопланктона [32].

На мировом рынке широко представлены различные зондирующие измерители флюоресценции, которые обладают несколькими общими недостатками, присущими почти всем приборам иностранного производства. Эти недостатки можно условно разделить на три категории: 1) эксплуатационные — неудобство и сложности использования аппаратуры в экспедиционных условиях; выход из строя основных узлов, ремонт или замена которых требует отправки прибора изготовителю; 2) метрологические — характеристики, имеющие срок годности и искажающиеся со временем, калибровку которых возможно произвести только у производителя или в сертифицированной лаборатории; 3) научно-технические — малочисленность измерительных каналов; измерения осуществляются в разных точках пространства; низкая дискретность измерений; низкая чувствительность, высокий уровень шумов. С учётом известных недостатков приборов-аналогов и с целью сокращения импортозависимости, в отделе оптики и биофизики моря Федерального Исследовательского Центра Морского Гидрофизического Института РАН разработан экспериментальный образец спектрального зондирующего измерителя флюоресценции пигментов фитопланктона, РОВ и упругого рассеяния света в морской воде (ФР-1).

2. Материалы и методы

В основу разработки флюориметра ФР-1 положен запатентованный способ одновременного определения концентрации пигментов фитопланктона, растворённого органического вещества и размерного состава взвеси в морской воде [33]. Разработанный флюориметр работает по схеме регистрации флюоресценции под углом 90°, которая позволяет минимизировать собственную засветку. Регистрация излучения флюоресценции осуществляется с использованием фотоэлектронного умножителя (ФЭУ) R6357 (Hamamatsu). На рис. 1 представлены функциональная схема и фотография внешнего вида разработанного экспериментального флюориметра ФР-1.

Плоскопараллельные пучки возбуждающего света от двух светодиодов (четырёхцветного, RGBA и ультрафиолетового), с максимумами на: 365, 457, 523, 592 и 623 нм соответственно, формируемые коллимирующими линзами, излучаются под углом 90° по отношению к фотоприёмному объективу. Регистрируемое излучение поступает через линзу-коллиматор и фокусируется на фотокатоде ФЭУ. Спектральная селекция сигналов осуществляется с помощью вращающегося диска со светофильтрами, установленного перед окном ФЭУ. Используются следующие светофильтры (ГОСТ 9411–91): УФС5 (220–380 нм), СЗС20+ЖС11 (410–520 нм), СЗС22+ЖС17 (490–565 нм), ОС11+СЗС23 (540–610 нм), КС11 (610–800 нм) и КС17 (665–800 нм). В табл. 2 представлены регистрируемые параметры в зависимости от спектров возбуждения и регистрации. Спектральные диапазоны светодиодов указаны в заголовке таблицы.

Разработанный флюориметр обеспечивает:

- измерение интенсивности флюоресценции пигментов фитопланктона и окрашенного растворённого органического вещества в оптически чистых водах при высокой фоновой освещённости, спектрально неотделимой от измеряемой величины;
- селективную чувствительность к сигналам высокой и низкой интенсивности при регистрации сигналов рассеяния и флюоресценции, при соотношении сигнал/шум на уровне не менее 75 дБ, а также обеспечивая на порядок большую величину уровней сигналов по отношению к фону, благодаря специально-разработанному световому ограждению;
- спектральную селективность для регистрации сигналов с перекрывающимися спектрами;
- регистрацию спектров возбуждения флюоресценции фитопланктона, а также показателей рассеяния света под углом 90° на пяти спектральных участках;
- регистрацию данных на всех каналах из одного и того же измерительного объёма, в котором в каждый конкретный момент времени находится одна и та же композиция взвешенного вещества.

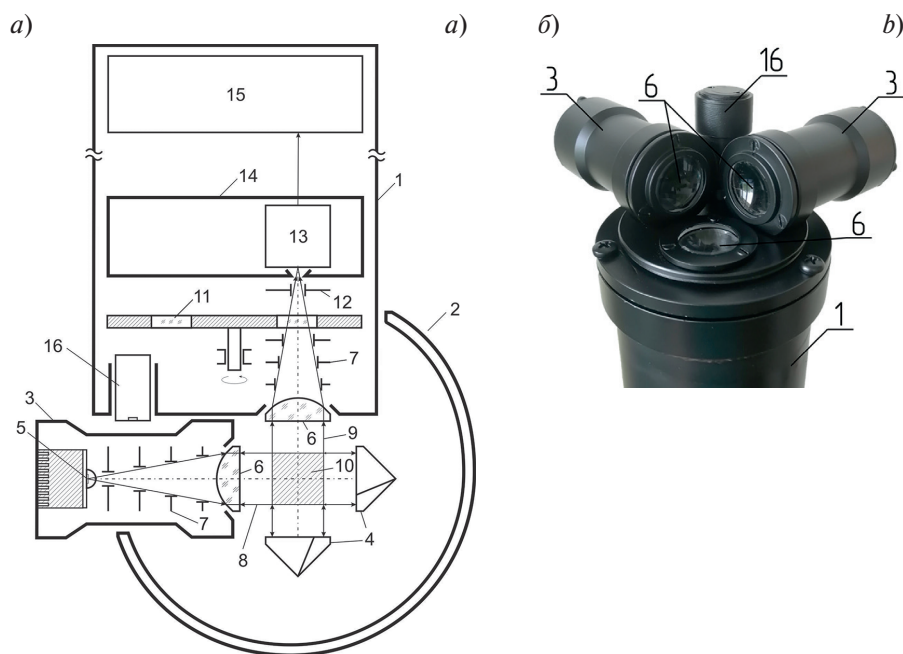


Рис. 1. Функциональная схема (а) и фотография внешнего вида флюориметра ФР-1 (б): 1 — герметичный корпус; 2 — световое ограждение; 3 — излучатели; 4 — триппель-призмы; 5 — светодиод на радиаторе; 6 — линза коллиматор; 7 — апертурные диафрагмы; 8 — возбуждающее излучение; 9 — регистрируемое излучение; 10 — измерительный объём; 11 — диск со светофильтрами; 12 — диафрагма; 13 — ФЭУ; 14 — электромагнитный экран для защиты ФЭУ; 15 — модуль накопления данных, ЛАКУНА; 16 — датчик давления

Fig. 1. Functional diagram (a) and photo of the appearance of the fluorimeter FR-1 (b): 1 — hermetic case; 2 — light barrier; 3 — lighth emitters; 4 — trippel prisms; 5 — LED on radiator; 6 — collimator lens; 7 — aperture diaphragms; 8 — excitation radiation; 9 — registered radiation; 10 — measuring volume; 11 — disk with light filters; 12 — diaphragm; 13 — PMT; 14 — electromagnetic screen for PMT protection; 15 — data accumulation module, LACUNA; 16 — pressure sensor

Таблица 2

Table 2

Теоретически регистрируемые параметры при комбинации светодиодов и светофильтров, использованных во флюориметре ФР-1

Theoretically recorded parameters with the combination of LEDs and light filters used in the fluorimeter FR-1

	Светодиоды					
Светофильтры	360–390 нм (УФ)		425–470 нм (СИН)	500–550 нм (ЗЕЛ)	565–600 нм (ОРАН)	595–645 нм (КРАС)
220–380 нм (УФС5)	Спектр ОРОВ	b_{p90}				
410–520 нм (СЗС20+ЖС11)		ОРОВ	b_{p90}			
490–565 нм (СЗС22+ЖС17)			Каротины	b_{p90}		
540–610 нм (ОС11+СЗС23)		Нефтепродукты [34, 35]		ФЭ	b_{p90}	
610–800 нм (КС11)					ФЦ	b_{p90}
665–800 нм (КС17)		БХл	Хл-а (син. пик)		ФЦ	Хл-а (красн. пик)
Спектр возбуждения флюоресценции						

Разработанный флюориметр ФР-1 позволяет получать синхронные данные об ИФ пигментов фитопланктона, матрицу возбуждения/регистрации флюоресценции фитопланктона, ИФ ОРОВ и спектр возбуждения флюоресценции ОРОВ, ИФ растворённых нефтепродуктов, которые могут быть зарегистрированы в этом спектральном диапазоне [34, 35] и спектры показателя рассеяния света взвешенными частицами (b_{p90}) под углом 90°. Все данные регистрируются из одного и того же измерительного объёма, где, в каждый конкретный момент времени находится одна и та же композиция взвешенного и растворённого вещества, что и является одним из основных отличий измерителя ФР-1 от других коммерческих флюориметров. Заре-

гистрированные сигналы интенсивности флюоресценции, с использованием математической обработки, учитывающей спектральную чувствительность ФЭУ, изменяемый коэффициент усиления сигнала, темновой ток, фоновую засветку, пересчитываются в единицы катодного тока ФЭУ. Зарегистрированные данные после выполнения такой обработки сопоставимы между собой. Дальнейший пересчёт этих значений в физические величины осуществляется с использованием регрессионных соотношений, полученных в результате выполнения соответствующих градуировок.

Разработанный флюориметр ФР-1 является автономным зондирующим измерителем, благодаря использованию универсального модуля ЛАКУНА [36] в его составе, который обеспечивает регистрацию и индикацию данных, поступающих от измерительного блока. По результатам зондирования на встроенном экране отображается вертикальный профиль выбранного параметра, что позволяет оценить необходимость повторного или прицельного зондирования, определить горизонты, на которых необходимо осуществить отбор проб воды. Зондирования ФР-1 могут выполняться совместно с гидрологическими работами на всех станциях при любых условиях освещённости. Работы производятся с борта судна с использованием судовой лебёдки или фала, до глубин не более 250 м. Скорость опускания прибора должна составлять 0,15–0,20 м/с. Разработанный флюориметр ФР-1 позволяет изучать структуру поля флюоресценции с пространственными масштабами порядка 10 см и более при временных масштабах порядка секунды и более. Флюориметр ФР-1, также, может быть использован в лабораторных условиях, с пробами, благодаря специально разработанной приставке кюветодержателю.

3. Результаты и обсуждение

Разработанный измеритель апробирован [37–39] в долговременных морских экспедициях на НИС «Профессор Водяницкий», где было выполнено более 300 зондирований, в результате которых были получены вертикальные профили ИФ Хл-*a*, фикоэритрина, фикоцианина, ИФ РОВ и спектры показателя рассеяния света под углом 90°. Примеры получаемых данных, с использованием ФР-1, приведены на рис. 2. Данные представлены в о.е. фотокатодного тока ФЭУ и сопоставимы между собой. Данные представлены без применения корректирующих поправок и без пересчёта в физические величины, для демонстрации качества получаемых данных.

Вертикальные профили (рис. 2, *a–з*) получены на станции № 87, 114-го рейса НИС «Профессор Водяницкий» (ПВ114), который проходил с 15 сентября по 10 октября 2020 г. Данная станция характеризовалась залеганием термоклина на глубине 12–15 м. Максимум ИФ Хл-*a* наблюдался на глубине 35–38 м.

Глубина эвфотического слоя составляла 50–55 м. На рис. 2, *и–к* представлены результаты лабораторных измерений спектров возбуждения флюоресценции монокультуры фитопланктона *Prorocentrum cordatum* (Ostenfeld) J.D. Dodge, 1976: 118, из коллекции ИнБЮМ РАН. Полученные спектры возбуждения соответствуют аналогичным спектрам, полученным другими авторами и описанными в литературе [40], что подтверждает верность получаемых данных.

Измеритель ФР-1 обладает достаточно широкими спектрами пропускания в полосе регистрации флюоресценции, в следствии чего, полученные данные носят интегральный характер. Для оценки спектров, интегральные величины которых регистрируется флюориметром ФР-1, была собрана экспериментальная установка, состоящая из измерителя ФР-1 и подключённого к нему, в качестве регистратора, монохроматора ML-44 (Solar). На рис. 2, *к* представлены спектры флюоресценции монокультуры *Prorocentrum cordatum* (Ostenfeld) J.D. Dodge, 1976: 118, зарегистрированные с помощью ML-44, при возбуждении светодиодами ФР-1 и при регистрации через светофильтр КС17, с диапазоном пропускания (650–800 нм).

Как видно из рис. 2, *к*, при возбуждении флюоресценции красным светодиодом, к спектру флюоресценции монокультуры примешивается длинноволновая часть спектра упругого рассеяния, прошедшая через светофильтр КС17. Также вклад этого рассеяния наблюдается в виде постоянной «подставки» на графике вертикального профиля возбуждения флюоресценции (рис. 2, *з*), при возбуждении светом с доминантной длиной волны 623 нм. Для коррекции данного эффекта разработан специальный математический алгоритм, применяемый к данным.

Градуировка канала регистрации ИФ Хл-*a* флюориметра ФР-1 выполнена на растворе монокультуры *Skeletonema costatum* (Greville) Cleve 1873:7 (из коллекции ИнБЮМ РАН), выращенной при постоянных внешних условиях (температуре и освещённости), рис. 3. Данная монокультура является характерной для Чёрного моря. Монокультура была адаптирована к темноте в течение 15-ти минут.

Измерения проводились в фильтрованной морской воде, в которую на каждом шаге измерений добавлялось сначала по 50 мл, позже — по 100 мл высокой концентрации монокультуры, после чего раствор тщательно перемешивался.

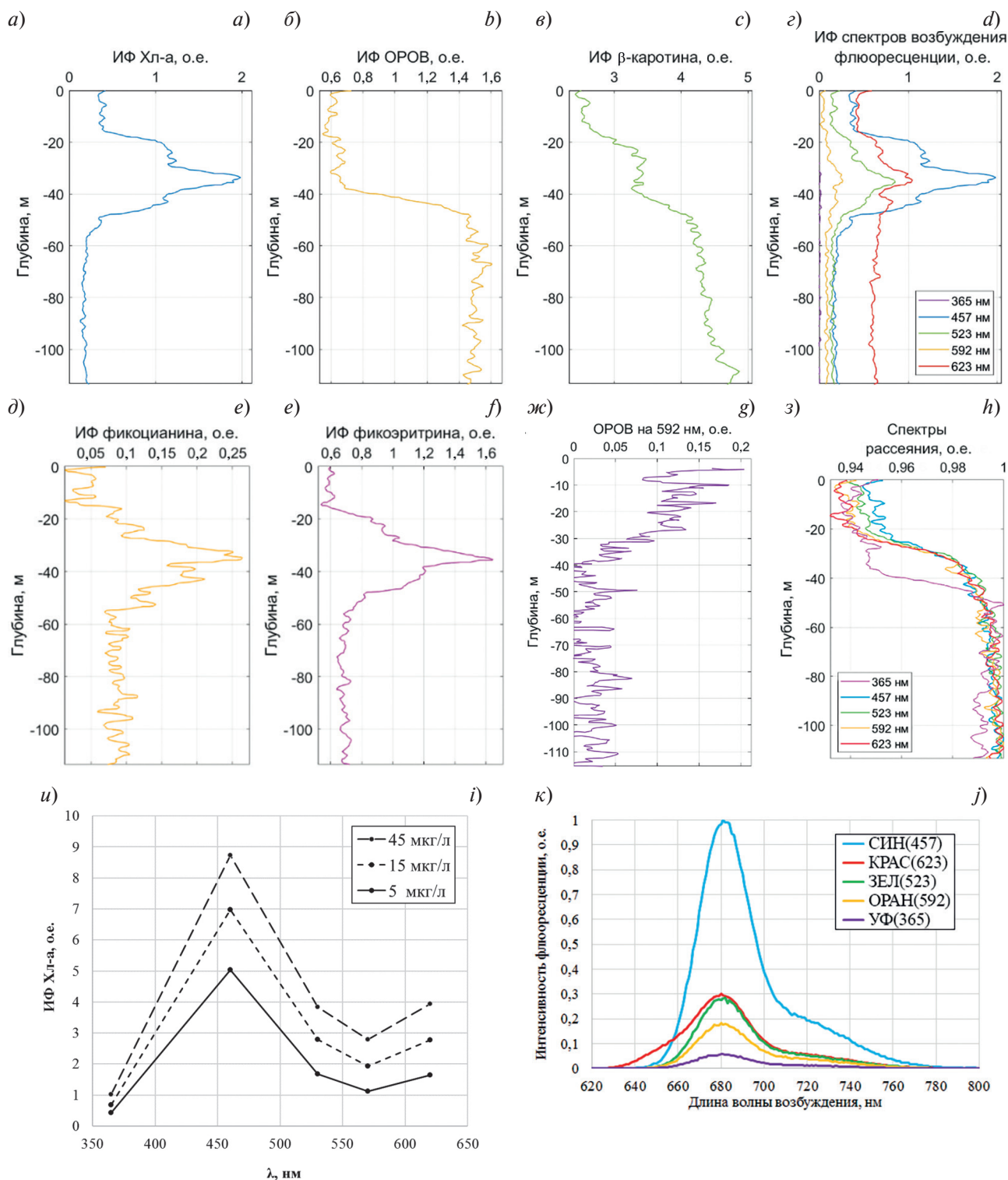


Рис. 2. Данные, полученные с использованием измерителя ФР-1: *a–з* — вертикальные профили для станции № 87, ПВ114; *и* — спектры возбуждения флуоресценции монокультуры *P. cordatum* (J.D. Dodge 1976: 118), измеренные в лабораторных условиях; *к* — спектры флуоресценции монокультуры *P. cordatum* (Ostenfeld) J.D. Dodge 1976: 118, зарегистрированные с использованием монохроматора ML-44 (Solar) подключённого в качестве приёмника к флуориметру ФР-1

Fig. 2. Data obtained using the FR-1 meter: *a–h* — vertical profiles for station No. 87, of the R/V PV114; *i* — fluorescence excitation spectra of *P. cordatum* monoculture (J.D. Dodge 1976: 118) measured in laboratory conditions; *j* — fluorescence spectra of *P. cordatum* monoculture (Ostenfeld) J.D. Dodge 1976: 118, measured in laboratory conditions; *k* — fluorescence spectra of *P. cordatum* (Ostenfeld) monoculture J.D. Dodge 1976: 118, recorded using monochromator ML-44 (Solar) connected as a receiver to fluorimeter FR-1

Измерения проводились при температуре 20 °С. Концентрация Хл-*a* монокультуры определялась спектрофотометрическим методом. Измерения проводились в темноте в течение 3–5 мин, за которые в среднем были получены 56 измерений. Коэффициент вариации выборки для канала возбуждения на 459 нм составил 2,5 %, что говорит о малой дисперсии данных. Диапазон измеренных концентраций Хл-*a* составил: 0–45 мкг/л, в котором наблюдалась линейная зависимость ИФ Хл-*a* от концентрации Хл-*a*. Определена чувствительность ФР-1 к минимальным значениям концентрации Хл-*a*, которая составила: 0,01–0,012 мкг/л.

Пересчёт измеренных сигналов рассеяния, в единицы показателя рассеяния света под углом 90° (рис. 4) осуществляется с использованием двухпараметрическая модели рассеяния О.В. Копелевича, которая представлена в его докторской диссертации [41].

По табличным значениям построена зависимость показателя рассеяния света от длины волны при заданных входных параметрах: концентрации взвеси, содержащей в морской воде и доли фракций в объёмной концентрации мелкой (с радиусом частиц менее 1 мкм) и крупной (с радиусом частиц более 1 мкм) фракций взвеси. Эмпирически была получена формула регрессионной зависимости: $y = 1324 \cdot x^{-2,357}$, по параметрам которой осуществляется пересчёт измеренных сигналов рассеяния света в морской воде в величины показателя рассеяния света, соответственно для каждого канала возбуждения. Показатель рассеяния света под углом 90° имеет максимальные значения в ультрафиолетовой области спектра и минимальные в длинноволновой области спектра, что согласуется с данными модели рассеяния О.В. Копелевича. Оценка размеров рассеивающих частиц осуществляется

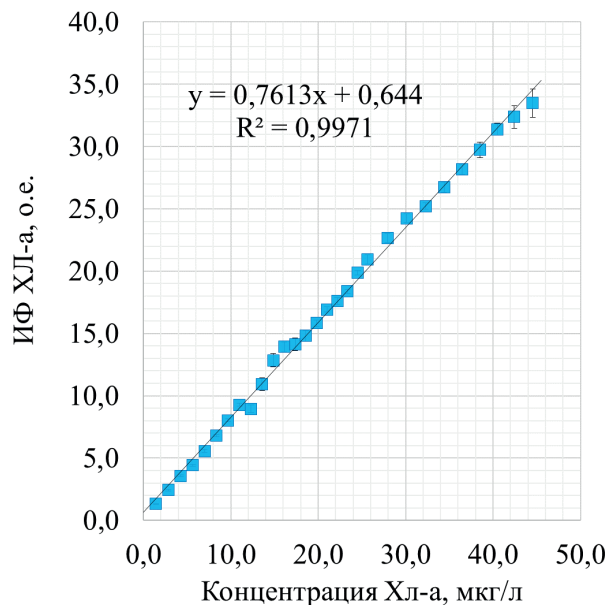


Рис. 3. Градуировочная характеристика канала регистрации ИФ Хл-*a*, разработанного измерителя ФР-1

Fig. 3. Gradient characteristic of the channel of registration of IF Chl-*a*, developed meter FR-1

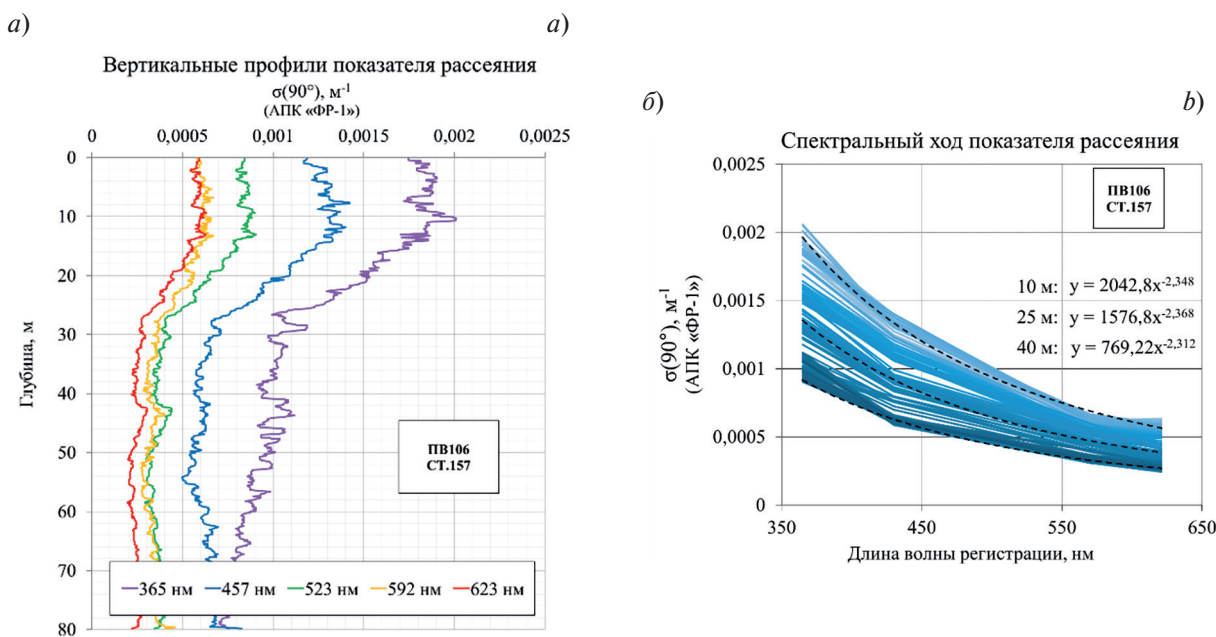


Рис. 4. Показатель рассеяния света в морской воде под углом 90°, для ст.№ 157, 106-го рейса НИС «Профессор Водяницкий»: а — вертикальный профиль; б — спектральный ход по глубине

Fig. 4. Light scattering index in sea water at an angle of 90°, for station No. 157, 106th voyage of the R/V 'Professor Vodyanitsky': а — vertical profile; б — spectral variations by depth

по показателю степени при длине волны. Количество взвешенных частиц оценивается из показателя рассеяния. Непосредственный расчёт показателя рассеяния взвешенными частицами (b_{p90}) планируется осуществить в перспективе.

4. Заключение

Регистрация сигналов флюоресценции живой многокомпонентной среды, представляющей собой систему со множеством обратных связей, предъявляет как высокие требования к зондирующей аппаратуре, так и к качеству и количеству регистрируемых параметров. Для описания такой сложной системы, с приемлемой точностью, требуется знания не только о концентрации Хл-*a*, но и о других пигментах фитопланктона.

Решение задачи повышения точности определения концентрации Хл-*a* и других пигментов фитопланктона, при регистрации флюоресцентными методами, а также задача таксономической дискриминации *in situ*, видится в проведении комплексных измерений набора гидрооптических параметров, совмещённых с отбором проб, для последующего анализа на видовой и пигментный состав, с привлечением к обработке данных современных вычислительных мощностей и нейросетевых алгоритмов.

Разработанный экспериментальный образец спектрального зондирующего измерителя флюоресценции ФР-1, в отличие от существующих коммерческих флюориметров, реализует комплексную одновременную регистрацию интенсивности флюоресценции пигментов фитопланктона, окрашенного растворённого органического вещества и показателя рассеяния света под углом 90° на пяти спектральных участках. ФР-1 является исследовательским прибором, позволяя изменять алгоритм регистрации в зависимости от задач исследования. В базовом исполнении реализован алгоритм регистрации спектров возбуждения флюоресценции, ИФ пигментов фитопланктона, ИФ ОРОВ, показателя рассеяния света под углом 90° (для задач определения размерного состава взвеси и разделения флюоресцирующей и не флюоресцирующей взвеси). Выполнена градуировка канала регистрации ИФ Хл-*a*. Линейный диапазон определения концентрации Хл-*a* составил: 0–45 мкг/л, при чувствительности: 0,01–0,012 мкг/л. Осуществлён пересчёт измеренных сигналов рассеяния света в морской воде в величины показателя рассеяния света. Спектральный ход показателя рассеяния света, измеренного с использованием ФР-1, согласуется с моделью рассеяния О.В. Копелевича. По показателю степени при длине волны выполняется оценка размеров рассеивающих взвешенных в воде частиц.

К недостаткам данного измерителя можно отнести широкие спектральные диапазоны возбуждения и регистрации и, как следствие, регистрацию интегрального сигнала флюоресценции по спектру (рис. 2, *κ*). Данный недостаток можно легко исправить заменой светофильтров на узкополосные, однако это повлечёт за собой ухудшение чувствительности.

Дальнейшее развитие работ с разработанным измерителем ФР-1 видится в выполнении метрологических работ, выполнении коррекции сигналов флюоресценции на поглощение РОВ и тушение флюоресценции, учёт влияния комбинационного рассеяния света чистой водой. А также проведение исследовательской работы по возможности таксономической дискриминации фитопланктона на основе данных, получаемых от данного измерителя.

Финансирование

Работа выполнена в рамках государственного задания по теме: FNNN-2021-0003 «Развитие методов оперативной океанологии на основе междисциплинарных исследований процессов формирования и эволюции морской среды и математического моделирования с привлечением данных дистанционных и контактных измерений» (шифр «Оперативная океанология», ФГБУН ФИЦ МГИ); FNNN-2021-0004, данные получены в рейсах НИС «Профессор Водяницкий» (Центр коллективного пользования «НИС Профессор Водяницкий» Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН»).

Funding

The work was carried out within the framework of the state assignment of the Federal State Budgetary Scientific Institution FITS MGI No. FNNN-2021-0003 'Development of methods of operational oceanology based on interdisciplinary studies of the processes of formation and evolution of the marine environment and mathematical modeling using data from remote and contact measurements' (code 'Operational oceanology'); FNNN-2021-0004, data were obtained during voyages of the R/V 'Professor Vodyanitsky' (Collective Use Centre 'R/V Professor Vodyanitsky' of the Federal State Budgetary Institution of Science Federal Research Centre 'A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas RAS').

Литература

1. Sieburth J.M.N., Smatacek V., Lenz J. Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions // *Limnology and Oceanography*. 1978. Vol. 23, Iss. 6. P. 1256–1263. doi:10.4319/lo.1978.23.6.1256
2. Geider R.J., Delucia E.H., Falkowski P.G. et al. Primary productivity of planet earth: biological determinants and physical constraints in terrestrial and aquatic habitats // *Global change biology*. 2001. Vol. 7, N 8. P. 849–882. doi:10.1046/j.1365-2486.2001.00448.x
3. Попик А.Ю. Динамика спектров лазерной индуцированной флуоресценции хлорофилла-а фитопланктона в условиях меняющихся параметров внешней среды: дис. ... канд. физ.-мат. наук. Институт автоматизации и процессов управления. Владивосток, 2015. 145 с.
4. Сафонов А.В., Огнистая А.В., Болдырев К.А. и др. Роль фитопланктона в самоочищении водоемов с радионуклидным загрязнением // *Радиохимия*. 2022. Т. 64, № 2. С. 120–132.
5. Евтушенко Н.Ю., Кузьменко М.И., Сиренко Л.А. Гидроэкологические последствия аварии на Чернобыльской АЭС. Киев: Наукова думка, 1992. 267 с.
6. Левин И.М. Малопараметрические модели первичных оптических характеристик морской воды // *Фундаментальная и прикладная гидрофизика*. 2014. Т. 7, № 3. С. 3–22.
7. Чурилова Т.Я., Финенко З.З., Акимов А.И. Пигменты микроводорослей // *Микроводоросли Черного моря: проблемы сохранения биоразнообразия и биотехнологического использования* / НАН Украины, Институт биологии южных морей. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2008. С. 301–319.
8. Дымова О.В., Головкин Т.К. Фотосинтетические пигменты: функционирование, экология, биологическая активность // *Известия Уфимского научного центра РАН*. 2018. № 3–4. С. 5–16.
9. Pfennig N. Photosynthetic bacteria // *Annual Reviews in Microbiology*. 1967. Vol. 21, N 1. С. 285–324. doi:10.1146/annurev.mi.21.100167.001441
10. Jeffrey S.W. Introduction to marine phytoplankton and their pigment signatures // *Phytoplankton pigments in oceanography — Guidelines to modern methods*. 1997. P. 37–84.
11. Harrison J.W. et al. Improved estimates of phytoplankton community composition based on in situ spectral fluorescence: use of ordination and field-derived norm spectra for the bbe FluoroProbe // *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2016. Vol. 73, N 10. С. 1472–1482. doi:10.1139/cjfas-2015-0360
12. Brown M.R., Jeffrey S.W., Volkman J.K. et al. Nutritional properties of microalgae for mariculture // *Aquaculture*. 1997. Vol. 151, N 1–4. P. 315–331. doi:10.1016/S0044-8486(96)01501-3
13. Копелевич О.В., Салинг И.В., Вазюля С.В. и др. Биооптические характеристики морей, омывающих берега западной половины России, по данным спутниковых сканеров цвета 1998–2017 гг. Москва: ООО «ВАШ ФОРМАТ», 2018. 140 с.
14. Лаврова О.Ю., Митягина М.И., Костяной А.Г. Спутниковые методы выявления и мониторинга зон экологического риска морских акваторий. М.: ИКИ РАН, 2016. 334 с.
15. Ли М.Е., Ли Р.И., Мартынов О.В. Определение биооптических свойств вод по измерениям спектральных характеристик флуоресценции и рассеяния света в морской среде // *Системы контроля окружающей среды*. 2014. № 20. С. 74–83.
16. Берсенева Г.П., Крупаткина Д.К. Особенности распределения пигментов фитопланктона в восточной части Черного моря в ранний летний период // *Экология моря*. 1990. Т. 35. С. 1–7.
17. Petit F., Uitz Ju., Schmechtig C. et al. Influence of the phytoplankton community composition on the in situ fluorescence signal: Implication for an improved estimation of the chlorophyll-a concentration from BioGeoChemical-Argo profiling floats // *Frontiers in Marine Science*. 2022. Vol. 9. P. 959131. doi:10.3389/fmars.2022.959131
18. Финенко З.З., Чурилова Т.Я., Ли Р.И. Вертикальное распределение хлорофилла и флуоресценции в Черном море // *Морской экологический журнал*. 2005. Т. 4, № 1. С. 15–46.
19. Taniguchi M., Lindsey J.S. Absorption and Fluorescence Spectral Database of Chlorophylls and Analogues // *Photochemistry and Photobiology*. 2021. Vol. 97, Iss. 1. P. 136–165. doi:10.1111/php.13319
20. Монин А.С. Оптика океана: В 2-х т. М.: Наука, 1983. Т. 1. Физическая оптика океана — 371 с.; Т. 2. Прикладная оптика океана — 236 с.
21. Тен Г.Н., Глухова О.Е., Слепченков М.М., Щербакова Н.Е., Баранов В.И. Теоретическое исследование влияния воды на структуру и спектры флуоресценции L-триптофана // *Оптика и спектроскопия*. 2016. Т. 121, № 4. С. 655–662. doi:10.7868/S0030403416100263
22. Горшкова О.М., Панаева С.В., Федосеева Е.В. и др. Флуоресценция растворенного органического вещества природной воды // *Вода: Химия и экология*. 2009. Т. 11, № 17. С. 31–37.
23. Joseph J. Extinction measurements to indicate distribution and transport of water masses // *Proceedings UNESCO Symposium on Physical Oceanography Tokyo*. 1955. P. 59–75.

24. Kalle K. Zum problem der meereswasser farbe // Ann. Hydrol. Mar. Mitt. 1938. Vol. 66. P. 1–13.
25. Кононович С.И., Науменко Е.К., Плюта В.Е. Исследование информативности спектров яркости выходящего излучения относительно содержания рассеивающих и поглощающих компонентов морской воды // Журнал прикладной спектроскопии. 1988. Т. 48, № 1. С. 127–133.
26. Скопинцев Б.А. Современные достижения в изучении органического вещества вод океанов // Океанология. 1971. Т. 11, № 6. С. 939–956.
27. Oestreich W.K., Ganju N., Pohlman J. et al. Colored dissolved organic matter in shallow estuaries: relationships between carbon sources and light attenuation // Biogeosciences. 2016. Vol. 13, N 2. P. 583–595. doi:10.5194/bg-13-583–2016
28. Акулова О.Б., Букатый В.И., Попов К.П. Содержание растворённого органического вещества в водоёмах разного трофического уровня // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. 2017. № 3(149). С. 100–106.
29. Glukhovets D.I., Goldin Y.A. Express method for chlorophyll concentration assessment // Journal of Photochemistry and Photobiology. 2021. Т. 8. P. 100083. doi:10.1016/j.jpap.2021.100083
30. Мусеева Н.А., Чурилова Т.Я., Ефимова Т.В., Маторин Д.Н. Коррекция тушения флуоресценции хлорофилла-а в верхнем перемешанном слое моря: разработка алгоритма // Морской гидрофизический журнал. 2020. Т. 36, № 1(211). С. 66–74. doi:10.22449/0233-7584-2020-1-66-74
31. Carberry L., Roesler C., Drapeau S. Correcting in situ chlorophyll fluorescence time-series observations for nonphotochemical quenching and tidal variability reveals nonconservative phytoplankton variability in coastal waters // Limnology and Oceanography Methods. 2019. Vol. 17. P. 462–473. doi:10.1002/lom3.10325
32. Никонова Е.Э., Тихонова Т.Н., Давыдов Д.А., Фадеев В.В. Применение метода индукции и релаксации флуоресценции (FIRE) для мониторинга вредоносных цветений фитопланктона // Современные проблемы гидрометеорологии и устойчивого развития Российской Федерации. 2019. С. 825–826.
33. Патент № 2775809 С1 Российская Федерация, МПК G01N21/64. Способ определения концентрации фотопигментов фитопланктона, растворённого органического вещества и размерного состава взвеси в морской воде in situ: № 2021124358; заявл. 13.08.2021; опубл. 11.07.2022 / М. Е.Г. Ли, О.Б. Кудинов; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр «Морской гидрофизический институт РАН».
34. Steffens J., Landulfo E., Courrol L., Guardani R. Application of fluorescence to the study of crude petroleum // Journal of Fluorescence. 2011. Vol. 21. P. 859–864. doi:10.1007/s10895-009-0586-4
35. Hadi N.M., Mohammed A.Z., Rasheed F.F., Younis S.I. Determination of absorption and fluorescence spectrum of Iraqi Crude oil // American Journal of Physics and Applications 2016. Vol. 4, Iss. 3. P. 78–83. doi:10.11648/j.ajpa.20160403.12
36. Кудинов О.Б., Латушкин А.А. Универсальный автономный накопитель для повышения оперативности гидрооптических исследований in situ // Процессы в геосредах. 2018. № 3 (17). С. 74–75.
37. Кудинов О.Б., Мартынов О.В., Ли Р.И. Зондирующий спектральный измеритель флуоресценции и рассеяния, испытания в лабораторных и полевых условиях // Фундаментальная и прикладная гидрофизика. 2020. Т. 13, № 2. С. 82–87. doi:10.7868/S2073667320020100
38. Kudinov O.B., Sysoev A.A., Latushkin A.A., Ryabokon D.A., Sysoeva I.V. “Optical and biological research of fluorescence fields in the Black Sea in autumn 2020” // Proceedings SPIE 11916, 27th International Symposium on Atmospheric and Ocean Optics, Atmospheric Physics, 119163K (15 December 2021). doi:10.1117/12.260332
39. Кудинов О.Б., Латушкин А.А., Ли Р.И. и др. Вертикальное распределение биооптических характеристик северной части Чёрного моря в осенний период 2020 г. // Современные проблемы оптики естественных вод: Труды XI Всероссийской конференции с международным участием, Санкт-Петербург, 29 сентября — 01 октября 2021 г. Санкт-Петербург: Химиздат, 2021. С. 125–130.
40. Poryvkina L., Babichenko S., Leeben A. Analysis of phytoplankton pigments by excitation spectra of fluorescence // EAR-SeL-SIG-Workshop LIDAR. Institute of Ecology/LDI, Tallinn, Estonia. 2000. С. 224–232.
41. Копелевич О.В. Оптические свойства океанской воды: дис. ... д-ра физ.-мат. наук: 11.00.08. Москва, 1981. 613 с.

References

1. Sieburth J.M.N., Smatacek V., Lenz J. Pelagic ecosystem structure: Heterotrophic compartments of the plankton and their relationship to plankton size fractions. *Limnology and Oceanography*. 1978, 23(6), 1256–1263. doi:10.4319/lo.1978.23.6.1256
2. Geider R.J., Delucia E.H., Falkowski P.G. et al. Primary productivity of planet earth: biological determinants and physical constraints in terrestrial and aquatic habitats *Global Change Biology*. 2001, 7, 8, 849–882. doi:10.1046/j.1365-2486.2001.00448.x

3. Popik A.Y. Dynamics of spectra of laser induced chlorophyll-a fluorescence of phytoplankton in conditions of changing parameters of the external environment: *Diss. ... kand. fiz.-mat. nauk. Institut Avtomatiki i processov upravleniya. Vladivostok*, 2015. 145 p. (in Russian).
4. Safonov A.V., Ognistaya A.V., Boldyrev K.A. et al. The role of phytoplankton in self-purification of water bodies with radionuclide pollutants. *Radiochemistry*. 2022, 64, 2, 120–132. doi:10.1134/S1066362222020023
5. Evtushenko N.Y., Kuzmenko M.I., Sirenko L.A. Hydroecological consequences of the accident at the Chernobyl NPP. *Kiev, Naukova dumka*, 1992. 267 p. (in Russian).
6. Levin I.M. Few-Parameter optical models of seawater inherent optical properties. *Fundamental and Applied Hydrophysics*. 2014, 7(3), 3–22 (in Russian).
7. Churilova T.Y., Finenko Z.Z., Akimov A.I. Pigments of microalgae. Microalgae of the Black Sea: problems of biodiversity conservation and biotechnological utilization. *NAN Ukrainy, A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas. Sevastopol, EKOSI-Gidrofizika*, 2008. 301–319 (in Russian).
8. Dymova O.V., Golovko T.K. Photosynthetic pigments: functioning, ecology, biological activity. *Izvestiya Ufimskogo Nauchnogo Tsentra RAN*. 2018, 3(4), 5–16 (in Russian).
9. Pfennig N. Photosynthetic bacteria. *Annual Reviews in Microbiology*. 1967, 21(1), 285–324. doi:10.1146/annurev.mi.21.100167.001441
10. Jeffrey S.W. Introduction to marine phytoplankton and their pigment signatures. *Phytoplankton pigments in oceanography — Guidelines to modern methods*. 1997, 37–84.
11. Harrison J.W. et al. Improved estimates of phytoplankton community composition based on in situ spectral fluorescence: use of ordination and field-derived norm spectra for the bbe FluoroProbe. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 2016, 73(10), 1472–1482. doi:10.1139/cjfas-2015-0360
12. Brown M.R., Jeffrey S.W., Volkman J.K. et al. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*. 1997, 151, 1–4, 315–331. doi:10.1016/S0044-8486(96)01501-3
13. Kopelevich O.V., Saling I.V., Vazyulya S.V. et al. Bio-optical characteristics of the seas lapping the coasts of the western half of Russia, according to the data of satellite color scanners 1998–2017. *Moskva, OOO «VASH FORMAT»*, 2018. 140 p. (in Russian).
14. Lavrova O.Yu., Mityagina M.I., Kostyanov A.G. Satellite methods of identification and monitoring of the environmental risk zones of marine areas. *M., IKI RAN*, 2016. 334 p. (in Russian).
15. Lee M.E., Lee R.I., Martynov O.V. Determination of bio-optical properties of waters by measurements of spectral characteristics of fluorescence and light scattering in the marine environment. *Sistemy Kontrolya Okruzhayushchei Sredy*. 2014, 20, 74–83 (in Russian).
16. Berseneva G.P., Krupatkina D.K. Peculiarities of phytoplankton pigment distribution in the eastern part of the Black Sea in the early summer period. *Ekologiya Morya*. 1990, 35, 1–7 (in Russian).
17. Petit F. et al. Influence of the phytoplankton community composition on the in situ fluorescence signal: Implication for an improved estimation of the chlorophyll-a concentration from BioGeoChemical-Argo profiling floats. *Frontiers in Marine Science*. 2022, 9, 959131. doi:10.3389/fmars.2022.959131
18. Finenko Z.Z., Churilova T. Ya., Li R.I. Vertical distribution of chlorophyll and fluorescence in the Black Sea. *Morskoi Ekologicheskii Zhurnal*. 2005, 4(1), 15–46 (in Russian).
19. Taniguchi M., Lindsey J.S. Absorption and fluorescence spectral database of chlorophylls and analogues. *Photochemistry and Photobiology*. 2021, 97(1), 136–165. doi:10.1111/php.13319
20. Monin A.S. Ocean Optics / Ed. Monin A.S. *Nauka*, 1983. Vol I, Physical ocean optics — 371 p., Vol II, Applied ocean optics — 236 p. (in Russian).
21. Ten G.N., Glukhova O.E., Slepchenkov M.M., Shcherbakova N.E., Baranov V.I. A theoretical investigation of the effect of water on the structure and fluorescence spectra of L-tryptophan. *Optics and Spectroscopy*. 2016, 121, 4, 599–606. doi:10.1134/S0030400X16100246
22. Gorshkova O.M., Patsaeva S.V. Fluorescence of organic matter dissolved in natural water. *Voda: Khimiya i Ekologiya*. 2009, 11, 31 (in Russian).
23. Joseph J. Extinction measurements to indicate distribution and transport of water masses. *Proceedings UNESCO Symposium on Physical Oceanography Tokyo*. 1955, 59–75.
24. Kalle K. Zum problem der meereswasser farbe. *Ann. Hydrol. Mar. Mitt*. 1938, 66, 1–13.
25. Kononovich S.I., Naumenko E.K., Pluta V.E. Investigation of the informativity of the brightness spectra of the outgoing radiation with respect to the content of scattering and absorbing components of sea water. *Zhurnal Prikladnoy Spektroskopii*. 1988, 48, 1, 127–133 (in Russian).
26. Skopintsev B.A. Recent advances in the study of organic matter of oceans. *Oceanology*. 1971, 11(6), 775–789.
27. Oestreich W.K., Ganju N., Pohlman J. et al. Colored dissolved organic matter in shallow estuaries: relationships between carbon sources and light attenuation. *Biogeosciences*. 2016, 13, 2, 583–595. doi:10.5194/bg-13-583-2016

28. Akulova O.B., Bukatyi V.I., Popov K.P. Content of dissolved organic matter in water bodies of different trophic level. *Vestnik Altaiskogo Gosudarstvennogo Agrarnogo Universiteta*. 2017, 3(149), 100–106 (in Russian).
29. Glukhovets D.I., Goldin Y.A. Express method for chlorophyll concentration assessment. *Journal of Photochemistry and Photobiology*. 2021, 8, 100083. doi:10.1016/j.jpap.2021.100083
30. Moiseeva N.A., Churilova T. Ya., Efimova T.V., Matorin D.N. Correction of the Chlorophyll a fluorescence quenching in the sea upper mixed layer: Development of the algorithm. *Physical Oceanography*. 2020, 27(1), 60–68. doi:10.22449/1573-160X-2020-1-60-68
31. Carberry L., Roesler C., Drapeau S. Correcting in situ chlorophyll fluorescence time-series observations for nonphotochemical quenching and tidal variability reveals nonconservative phytoplankton variability in coastal waters. *Limnology Oceanography Methods*. 2019, 17, 462–473. doi:10.1002/lom3.10325
32. Nikonova E.E. et al. Application of the fluorescence induction and relaxation (FIRE) method for monitoring harmful phytoplankton blooms. *Sovremennye Problemy Gidrometeorologii i Ustoichivogo Razvitiya Rossiiskoi Federatsii*. 2019, 825–826 (in Russian).
33. Patent No. 2775809 C1 Russian Federation, MPC G01N21/64. Method for determination of phytoplankton photopigment concentration, dissolved organic matter and suspended sediment size composition in seawater in situ: No. 2021124358: заявл. 13.08.2021: опубл. 11.07.2022 / М. Е.Г. Ли, О.Б. Кудин; заявитель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр “Морской гидрофизический институт РАН” (in Russian).
34. Steffens J. et al. Application of fluorescence to the study of crude petroleum. *Journal of Fluorescence*. 2011, 21, 859–864. doi:10.1007/s10895-009-0586-4
35. Hadi N.M., Mohammed A.Z., Rasheed F.F., Younis S.I. Determination of Absorption and Fluorescence Spectrum of Iraqi Crude Oil. *American Journal of Physics and Applications*. 2016, 4(3), 78–83. doi:10.11648/j.ajpa.20160403.12
36. Kudinov O.B., Latushkin A.A. Universal autonomous storage device for increasing the efficiency of in situ hydro-optical research. *Processes in Geomedia*. 2018, 3 (17), 74–75 (in Russian).
37. Kudinov O.B., Martynov O.V., Lee R.I. Sounding spectral meter of fluorescence and light scattering: laboratory and field testing. *Fundamental and Applied Hydrophysics*. 2020, 13(2), 82–87. doi:10.7868/S2073667320020100
38. Kudinov O.B., Sysoev A.A., Latushkin A.A., Ryabokon D.A., Sysoeva I.V. Optical and biological research of fluorescence fields in the Black Sea in autumn 2020. *Proceedings of SPIE — The International Society for Optical Engineering*: 27, Moscow, 05–09.06.2021. Moscow, 2021, 119163. doi:10.1117/12.2603332
39. Kudinov O.B., Latushkin A.A., Li R.I. et al. Vertical distribution of bio-optical characteristics of the northern part of the Black Sea in the autumn period of 2020. *Proceedings of the XI All-Russian Conference with international participation «Current problems in optics of natural waters»*. SPb.: LLC «Chimizdat», 2021. 264 p. P. 125–130 (in Russian).
40. Poryvkina L., Babichenko S., Leeben A. Analysis of phytoplankton pigments by excitation spectra of fluorescence. EAR-SeL-SIG-Workshop LIDAR. Institute of Ecology/LDI, Tallinn, Estonia. 2000, 224–232.
41. Kopelevich O.V. Optical properties of ocean water: diss. ... d-ra fiz.-mat. nauk: 11.00.08. Moskva, 1981, 613. (in Russian).

Об авторах

КУДИНОВ Олег Борисович, РИНЦ AuthorID: 861503, kudinov_ob@mhi-ras.ru

ЛИ Михаил Ен Гон, доктор физико-математических наук, профессор, РИНЦ AuthorID: 865650, ORCID ID: 0000-0001-5221-1772, Scopus AuthorID: 56142710400, michael.lee.mhi@gmail.com