

ОПТИКА И СПЕКТРОСКОПИЯ. ЛАЗЕРНАЯ ФИЗИКА

Определение концентрации хлоросомных бактериохлорофиллов по спектрам поглощения клеток зеленых серных бактерий в пробах природной водыП. С. Емельянцева,^{1,а} А. А. Жильцова,^{1,б} Е. Д. Краснова,^{2,в} Д. А. Воронов,^{3,4} В. В. Рымарь,¹ С. В. Пацаева¹¹ *Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, физический факультет, кафедра общей физики. Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2.*² *Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, биологический факультет, Беломорская биологическая станция имени Н. А. Перцова. Россия, 184042, Мурманская область, Кандалакшский район, Главпочтамт, а/я 20.*³ *Институт проблем передачи информации имени А. А. Харкевича РАН. Россия, 127051, Москва, Большой Каретный переулок, д. 19, стр. 1.*⁴ *Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Институт физико-химической биологии имени А. Н. Белозерского. Россия, 119992, Москва, Ленинские горы, дом 1, стр. 40.*

Поступила в редакцию 25.12.2019, после доработки 31.01.2020, принята к публикации 04.02.2020.

Работа посвящена разработке и апробации безэкстракционного метода определения концентрации хлоросомных бактериохлорофиллов (Бхл) — фотосинтетических пигментов зеленых серных бактерий — с измерением спектров оптической плотности микроорганизмов непосредственно в природной воде. Работа нацелена на упрощение измерений концентрации Бхл, сокращение затрачиваемого на измерения времени и устранение токсичных растворителей из экспериментов. Сравнение результатов определения концентрации Бхл традиционными методами с помощью измерения спектров поглощения экстрактов пигментов и нового метода измерения концентрации с использованием длинноволновой полосы поглощения Бхл в клетках бактерий в природной воде для разных серий проб показало высокий коэффициент корреляции: от 0.9866 до 0.9991. Приведены профили распределения концентрации Бхл по глубине, построенные по спектрам поглощения природной воды, для некоторых меромиктических водоемов Беломорского региона в сентябре 2019 г. и оз. Могильное (Баренцево море) в июне 2019 г.

Ключевые слова: абсорбционная спектроскопия, оптические измерения, бактериохлорофилл, зеленые серные бактерии, концентрация, пигменты.

УДК: 535.34. PACS: 33.20.t, 42.62.Be, 42.68.Hy.

ВВЕДЕНИЕ

На сегодняшний день спектрально-оптические методы широко используются в океанографических и лимнологических исследованиях. Спектральные характеристики водных организмов, содержащих хлорофилл (Хл), довольно хорошо исследованы [1, 2], в то время как оптические свойства фотосинтетических пигментов аноксигенных фототрофных бактерий — бактериохлорофиллов (Бхл) — пока плохо изучены и мало применяются на практике из-за трудности процесса отбора проб воды, их транспортировки в лабораторию, сложности культивирования аноксигенных фототрофов, а также из-за отличия культивируемых штаммов от природных.

В районе Кандалакшского залива Белого моря находятся несколько водоемов на разных стадиях изоляции от Белого моря [3–6]. В этих водоемах на границе между верхним кислородным и нижним бескислородным слоями сложились благоприятные условия для специфических микроорганизмов, таких как зеленые серные бактерии (ЗСБ) [7, 8]. Основными фотосинтетическими пигментами ЗСБ являются хлоросомные Бхл *c*, Бхл *d* и Бхл *e*. В связи со специфическими условиями, необходимыми для жизни ЗСБ, их присутствие в воде говорит о наличии

сероводородного заражения водоема. Информация о динамике положения сероводородного слоя в водоеме позволяет делать прогнозы, что будет с этим водоемом в будущем.

Работа посвящена совершенствованию и применению на практике спектрального метода определения концентрации хлоросомных Бхл зеленых серных бактерий (ЗСБ) в пробах воды без экстрагирования пигментов. До настоящего времени для определения концентраций хлоросомных Бхл широко использовалась эмпирическая формула [9], полученная Оверманном и Тилзером в 1989 г. В эту формулу входят значения оптической плотности на 651 и 663 нм в спектре поглощения Бхл в ацетоновом экстракте. Однако изготовление экстрактов из проб воды с ЗСБ затруднено необходимостью предварительной фильтрации или центрифугирования пробы для повышения концентрации пигментов, использованием токсичных органических растворителей, таких как ацетон и метанол, а также необходимостью выдерживать экстракт не менее суток в холодном темном месте для полного экстрагирования Бхл. В некоторых случаях требуется центрифугировать полученные экстракты для осаждения рассеивающих частиц. Данная работа нацелена на упрощение измерений концентрации Бхл, сокращение затрачиваемого на измерения времени и снижение сопутствующей опасности, связанной с использованием токсичных растворителей.

^а E-mail: emelyantsev97@mail.ru

^б E-mail: aa.zhiltcova@physics.msu.ru

^в E-mail: e_d_krasnova@mail.ru

1. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ

При разработке нового метода в качестве образцов взяты пробы воды, отобранные в марте 2018 г. из нескольких меромиктических водоемов, отделяющихся от акватории Белого моря: лагуны на Зеленом мысе, оз. Большие Хрусломены и оз. Трехцветного, содержащие зеленоокрашенные и коричневоокрашенные ЗСБ. Для апробации метода в разные сезоны 2018–2019 гг. отобраны пробы из тех же водоемов, а также из оз. Елового (побережье Белого моря) и оз. Могильного (о-в Кильдин в Баренцевом море).

Для фильтрации проб использовались ацетатцеллюлозные фильтры с диаметром пор 0.22 мкм или лавсановые фильтры с диаметром пор 0.2 мкм. Для определения концентраций Бхл с помощью спектрометрических формул из отобранных проб воды с ЗСБ были приготовлены экстракты. В качестве растворителя была выбрана смесь ацетона и этанола в пропорции 7 к 2.

Спектры оптической плотности проб измеряли при помощи спектрофотометров Solar PB2201 или PV1251 в стандартных кюветках для фотометрии с длиной оптического пути 1, 2 или 3 см в спектральном диапазоне 300–900 нм с шагом 1 нм. Для дальнейших расчетов все оптические плотности приводились к длине оптического пути 1 см.

2. СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ ЗЕЛЕННЫХ СЕРНЫХ БАКТЕРИЙ В ВОДЕ

На рис. 1 приведены примеры спектров поглощения проб воды с зеленоокрашенными и коричневоокрашенными бактериями. В спектре поглощения пробы из оз. Трехцветного присутствуют две ярко выраженные полосы поглощения Бхл *d* зеленоокрашенных ЗСБ: в коротковолновой области с максимумом на 445–455 нм и в длинноволновой с максимумом на 725–735 нм. У зеленоокрашенных ЗСБ относительно низкое содержание каротиноида хлоробактина (почти в 4 раза меньше, чем

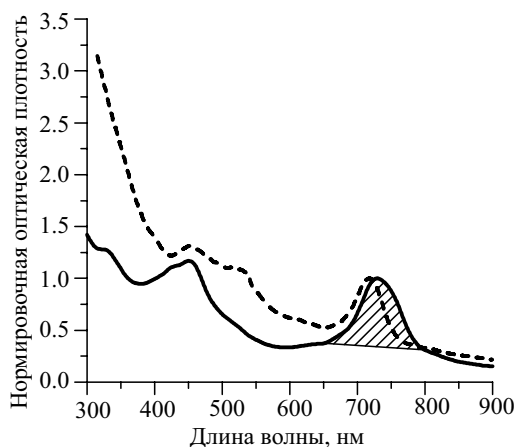


Рис. 1. Спектры поглощения проб воды с микроорганизмами, нормированные на максимум длинноволновой полосы поглощения Бхл: из оз. Трехцветного с глубины 2.075 м, сентябрь 2019 г. (сплошная линия); из лагуны на Зеленом мысе с глубины 5 м, сентябрь 2019 г. (пунктирная линия). Заштрихованная область соответствует площади длинноволновой полосы поглощения Бхл

содержание каротиноида изорениератина у коричневоокрашенных ЗСБ), поэтому в спектрах поглощения воды с зеленоокрашенными ЗСБ полоса, отвечающая за поглощение хлоробактина, практически не наблюдается. В спектре поглощения пробы из лагуны на Зеленом мысе также присутствуют две ярко выраженные полосы поглощения Бхл *e* коричневоокрашенных ЗСБ с максимумами на 450–460 нм и на 715–725 нм, а также полоса, отвечающая за поглощение каротиноида изорениератина с максимумом на 535–545 нм.

В спектрах поглощения всех исследованных серий проб воды с ЗСБ полосы поглощения каротиноидов плохо различимы из-за рассеяния. Основным источником рассеяния света в воде изучаемых водоемов являются частицы диаметром менее 2 мкм: гетеротрофные и фотоавтотрофные бактерии и самые маленькие эукариотические клетки [10]. К рассеивающим частицам относятся и сами ЗСБ с размерами $(0.7-1) \cdot (0.8-1.6)$ мкм [11]. Рассеяние света такими частицами описывается теорией рассеяния Ми, интенсивность рассеяния увеличивается с уменьшением длины волны, поэтому его вклад в длинноволновый пик поглощения заметно меньше, чем в коротковолновый.

Помимо хлоросомных Бхл, в клетках ЗСБ может присутствовать Бхл *a*; в одной фотосинтетической единице на 1000–2000 молекул Бхл *c*, *d* или *e* внутри светособирающих антенных комплексов (хлоросом) приходится 100 молекул Бхл *a* внутри ФМО-белка и в реакционном центре [11]. Полоса поглощения Бхл *a* приходится на 805–810 нм [12], т. е. находится за границей длинноволновой полосы поглощения Бхл *d* и/или *e* (650–800 нм), а концентрация Бхл *a* в пробе воды с ЗСБ на порядок меньше концентрации Бхл *d* или *e*.

3. СПЕКТРЫ ПОГЛОЩЕНИЯ БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛОВ В ЭКСТРАКТАХ

На рис. 2 приведены примеры спектров поглощения экстрактов, приготовленных из проб воды с зеленоокрашенными и коричневоокрашенными ЗСБ.

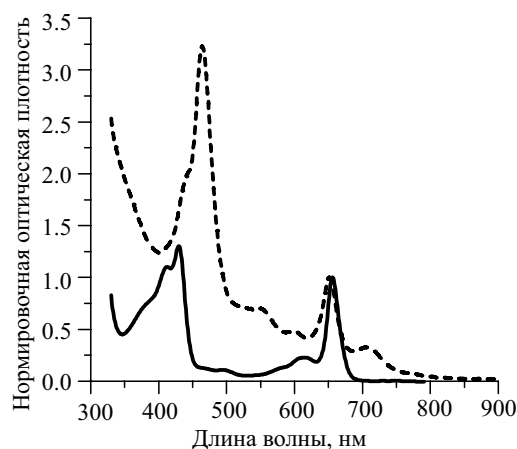


Рис. 2. Спектры поглощения ацетон-этаноловых экстрактов, нормированные на максимум длинноволновой полосы поглощения Бхл, приготовленных из воды оз. Трехцветного с глубины 2.075 м, сентябрь 2019 г. (сплошная линия); из лагуны на Зеленом мысе с глубины 5 м, сентябрь 2019 г. (пунктирная линия)

В спектрах поглощения экстрактов Бхл так же, как и в спектрах поглощения клеток ЗСБ, присутствуют две основные полосы поглощения. Для экстракта пробы из оз. Трехцветного, содержащего Бхл *d* зеленоокрашенных ЗСБ, это полосы с максимумами на 427–432 нм и на 654–658 нм. Для экстракта пробы из лагуны на Зеленом мысе, содержащего Бхл *e* коричневоокрашенных ЗСБ, это длинноволновая полоса с максимумом на 652–656 нм и коротковолновая полоса с максимумом на 461–468 нм. Относительно большое значение оптической плотности в последнем обусловлено высоким содержанием каротиноида изоэриератина в клетках коричневоокрашенных ЗСБ, полоса поглощения которого перекрывается с коротковолновой полосой поглощения Бхл *e*.

В ацетон-этаноловом экстракте под воздействием растворителя в клетках ЗСБ происходит разрушение структуры хлоросом, содержащих высоко агрегированные пигменты Бхл. При экстрагировании происходит сдвиг максимума поглощения Бхл в более коротковолновую область примерно на 70 нм, что свидетельствует о переходе Бхл от агрегированной формы к мономерной.

Отметим, что длинноволновый пик поглощения хлоросомных Бхл с максимумом 655 нм перекрывается с пиком поглощения Хл с максимумом 663 нм в ацетоне, поэтому в экстрактах при одновременном присутствии хлоросомных Бхл и Хл их количественное определение требует решения непростой задачи. Напротив, в воде оба вида пигментов хорошо различаются, так как максимум поглощения Хл в клетках водорослей или цианобактерий расположен при 670–680 нм [2], а длинноволновый пик поглощения Бхл в клетках ЗСБ приходится на диапазон 715–735 нм.

Полосы поглощения Бхл *a* и хлоросомных Бхл в экстрактах разделены по спектру: в ацетоновых экстрактах длинноволновый максимум поглощения Бхл *d* расположен при 654 нм [13], Бхл *e* — 649 нм [14], Бхл *a* — 770 нм [15]. Поэтому можно считать, что наличие Бхл *a* практически не влияет на определение хлоросомных Бхл в экстрактах.

4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ БХЛ ПО СПЕКТРАМ ПОГЛОЩЕНИЯ ЭКСТРАКТОВ

Для определения концентраций Бхл *d* и Бхл *e* использовались следующие формулы, полученные из закона Бугера—Ламберта—Бера ослабления света при прохождении через слой вещества и из определения оптической плотности:

$$C(\text{Bchl } d) = \frac{D_{655}}{\varepsilon_{\text{Bchl } d} \cdot d} \cdot \frac{v}{V} \cdot \frac{1}{\theta} \cdot 10^6,$$

$$C(\text{Bchl } e) = \frac{D_{655}}{\varepsilon_{\text{Bchl } e} \cdot d} \cdot \frac{v}{V} \cdot \frac{1}{\theta} \cdot 10^6,$$

где D_{655} — оптическая плотность ацетон-этанолового (7:2) экстракта на длине волн 655 нм, откорректированная на рассеяние; $\varepsilon_{\text{Bchl } d}$ — коэффициент экстинкции Бхл *d* = 98.0 мл · (мг · см)⁻¹ [13]; $\varepsilon_{\text{Bchl } e}$ — коэффициент экстинкции Бхл *e* = 49.6 мл · (мг · см)⁻¹ [14]; d — длина оптического пути кюветы (см); v — объем ацетон-метанолового экстракта (мл); V — объем воды в экстракте (или отфильтрованной воды) (мл);

θ — доля фильтра, использованного для приготовления экстракта (если не было фильтрации, то $\theta = 1$).

Корректирование на рассеяние осуществляется посредством вычитания из оптической плотности на 655 нм минимума оптической плотности в диапазоне от 700 до 850 нм, отвечающего за рассеяние.

Осложнения в определении концентрации какого-то одного пигмента (Бхл *d* или Бхл *e*) возникают, когда в водоеме присутствуют обе разновидности ЗСБ: и зеленоокрашенные, и коричневоокрашенные. При этом длинноволновые полосы поглощения обоих пигментов перекрываются и определить концентрацию отдельно для Бхл *d* или Бхл *e* по спектрометрическим формулам, полученных из закона Бугера, не представляется возможным. В этом случае можно определить соотношение между содержанием Бхл *d* и Бхл *e* либо по коротковолновым пикам поглощения в экстрактах, различным для этих пигментов (440 нм для Бхл *d* и 470 нм для Бхл *e*), либо с использованием флуоресцентного анализа. Это является отдельной спектрометрической задачей и в рамках данной работы не рассматривается. Поэтому для озер Большие Хрусломены и Елового оценки соотношения содержания зеленоокрашенных и коричневоокрашенных ЗСБ были взяты из предыдущих исследований: 73% зеленоокрашенных и 27% коричневоокрашенных для оз. Большие Хрусломены [16]; 60% коричневоокрашенных и 40% зеленоокрашенных для оз. Еловое [17]. Тогда с учетом этих соотношений расчетные формулы для концентраций Бхл *d*, Бхл *e* и для суммарных концентраций примут вид:

$$C(\text{Bchl } d) = \varphi_{\text{Bchl } d} \cdot \frac{D_{655}}{\varepsilon_{\text{Bchl } d} \cdot d} \cdot \frac{v}{V} \cdot \frac{1}{\theta} \cdot 10^6,$$

$$C(\text{Bchl } e) = \varphi_{\text{Bchl } e} \cdot \frac{D_{655}}{\varepsilon_{\text{Bchl } e} \cdot d} \cdot \frac{v}{V} \cdot \frac{1}{\theta} \cdot 10^6,$$

$$C(\text{Bchl } d, e) = D_{655} \cdot \left(\frac{\varphi_{\text{Bchl } d}}{\varepsilon_{\text{Bchl } d}} + \frac{\varphi_{\text{Bchl } e}}{\varepsilon_{\text{Bchl } e}} \right) \cdot \frac{v}{V \cdot d} \cdot \frac{1}{\theta} \cdot 10^6,$$

где $\varphi_{\text{Bchl } d}$ и $\varphi_{\text{Bchl } e}$ — доли Бхл *d* и Бхл *e* в смеси для определенного водоема. Сделаем следующую замену: $\left(\frac{\varphi_{\text{Bchl } d}}{\varepsilon_{\text{Bchl } d}} + \frac{\varphi_{\text{Bchl } e}}{\varepsilon_{\text{Bchl } e}} \right) = \varepsilon_{\text{eff}}$ — эффективный коэффициент экстинкции для определенного водоема. Такой подход для ЗСБ был применен впервые.

5. ОПИСАНИЕ НОВОГО МЕТОДА ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИЙ БАКТЕРИОХЛОРОФИЛЛОВ В ПРОБАХ ПРИРОДНОЙ ВОДЫ

Метод, предложенный в 2018 г. [18], позволяет опустить ряд традиционных операций, поскольку он заключается в определении концентраций Бхл *d* и *e* по площади длинноволновой полосы поглощения в абсорбционных спектрах клеток бактерий в воде. В качестве первого приближения был выбран интервал длин волн от 650 до 800 нм и аппроксимация «педестала» под пиком поглощения в виде трапеции. Заштрихованная область на рис. 1 соответствует площади длинноволнового пика поглощения Бхл в клетках бактерий в данной пробе воды. Нами предпринимались попытки вычитания базовой линии рассеяния, аппроксимированной другими функциями (обратными степенями длины волны с различными

показателями), однако точность вычисления площади полосы длинноволнового поглощения бактериохлорофилла при этом не повышалась. Поэтому мы оставили линейное приближение как самое простое и удобное. Светорассеяние можно учитывать и другими способами — например, измерением спектров поглощения культур ЗСБ, разведенных в глицерине для уменьшения рассеяния, как это показано в работе [8] для ЗСБ. Однако этот метод требует дополнительной пробоподготовки, поэтому в данной работе не рассматривается. Также истинные спектры поглощения (без линии рассеяния) можно получить с использованием интегрирующей сферы, как это было сделано в работе [19] для спектров поглощения Хл *a*. В данной работе этот метод также не рассматривается как непригодный для последующего применения в погружаемом приборе. Поглощение света растворенным органическим веществом (РОВ), которое всегда содержится в пробах озерной воды, в спектральном диапазоне длинноволновой полосы поглощения хлоросомных бактериохлорофиллов 650–800 нм пренебрежимо мало и не оказывает существенного влияния на измерение концентрации пигментов [20, 21].

Для всех исследуемых серий проб обнаружена пропорциональная зависимость между ΣD (площадью длинноволновой полосы в спектрах поглощения Бхл в пробах воды с вычтенным пьедесталом рассеяния) и концентрациями, рассчитанными по формулам для концентраций Бхл *d* и Бхл *e*, полученных из закона ослабления света Бугера—Ламберта—Бера. Пример одной из полученных зависимостей представлен на рис. 3. Для каждой серии проб получены коэффициенты линейной регрессии K [нм·м³/мг] для пропорциональных зависимостей ΣD от концентраций Бхл, рассчитанных по фотометрическим формулам для экстрактов, и вычислены коэффициенты A [мг/(нм·м³)], обратные коэффициентам K . Формулу для расчета концентрации Бхл по спектрам поглощения в воде можно записать с помощью коэффициента A следующим образом:

$$C(\text{Bchl } d, e)[\text{мг/м}^3] = A[\text{мг}/(\text{нм}\cdot\text{м}^3)] \cdot \Sigma D[\text{нм}].$$

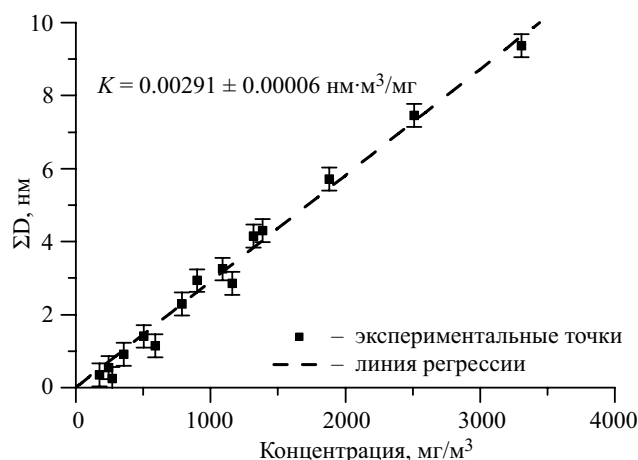


Рис. 3. Корреляция между площадью ΣD длинноволновой полосы поглощения в воде и концентрацией Бхл, рассчитанной по формуле из закона Бугера для экстрактов. Данные для оз. Трехцветное (отбор проб многошприцевым пробоотборником с шагом 2.5 см по глубине, март 2018 г.)

Для всех исследованных серий проб коэффициенты A получились довольно близкими: 344 ± 7 мг/(нм·м³) (зеленоокрашенная разновидность ЗСБ с Бхл *d*, оз. Трехцветное, отбор проб многошприцевым пробоотборником, март 2018 г.), 339 ± 24 мг/(нм·м³) (зеленоокрашенная культуры с Бхл *e*, штамм ЗМ-2014), 334 ± 8 мг/(нм·м³) (смешанное сообщество зеленоокрашенной и зеленоокрашенной разновидности ЗСБ, оз. Большие Хрусломены, отбор проб многошприцевым пробоотборником, сентябрь 2018 г.). Поэтому для итоговой эмпирической формулы было выбрано среднее значение коэффициента A по девяти исследованным сериям: $A = 336 \pm 9$ мг/(нм·м³). Таким образом, мы получили формулу для расчета концентрации Бхл по спектрам поглощения микроорганизмов непосредственно в воде:

$$C(\text{Bchl } d, e)[\text{мг/м}^3] = 336[\text{мг}/(\text{нм}\cdot\text{м}^3)] \cdot \Sigma D[\text{нм}].$$

По новой эмпирической формуле были рассчитаны концентрации Бхл *d* и *e* для исследованных серий проб воды из оз. Трехцветное, оз. Еловое, оз. Большие Хрусломены и лагуны на Зеленом мысе, отобранные в сентябре 2019 г. О хорошем согласии данных, полученных разными методами, можно судить по корреляции концентраций Бхл, определенных по спектрам поглощения экстрактов и по спектрам поглощения проб воды с ЗСБ. Разброс коэффициентов корреляции для разных серий проб составил от 0.9866 до 0.9991.

Для апробации метода построены профили распределения концентраций Бхл, полученные для каждой серии проб по спектрам поглощения бактерий непосредственно в воде (см. рис. 4). На рис. 4 показаны примеры распределения концентрации Бхл по глубине в нескольких меромиктических водоемах Беломорского региона в сентябре 2019 г. и оз. Могильное (Баренцево море) в июне 2019 г. По этим распределениям можно судить, что глубина с максимальной концентрацией Бхл в оз. Трехцветное — 2.05 м, в оз. Еловом — 3.175 м, в оз. Большие Хрусломены — 4.1 м, в лагуне на Зеленом мысе — 5.3 м, в оз. Могильном — 8 м. Эти данные согласуются с результатами измерений предыдущих лет в этих же водоемах, при этом концентрация Бхл и глубина горизонта с его максимальной концентрацией зависят от сезона и меняются в различные годы. Например, для оз. Трехцветного максимальная концентрация Бхл *d* наблюдалась на глубине 1.8 м (июль–август 2013 г.), 2 м (февраль 2015 г.), 1.825 м (июль 2016 г.), 1.85 м (март 2017 г.), 1.9 м (июль 2017 г.), 2.1 м (март 2018 г.), 2.05 м (сентябрь 2018 г.), 2.175 м (март 2019 г.) [22–24]. Сезонные колебания концентрации и глубины максимальной концентрации Бхл в общем случае зависят от гидрологических и климатических условий и освещенности в верхних слоях водоема.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, разработанный метод позволяет без экстрагирования пигментов определить картину распределения бактериохлорофилла ЗСБ по глубине в меромиктических водоемах, значительно ускорить

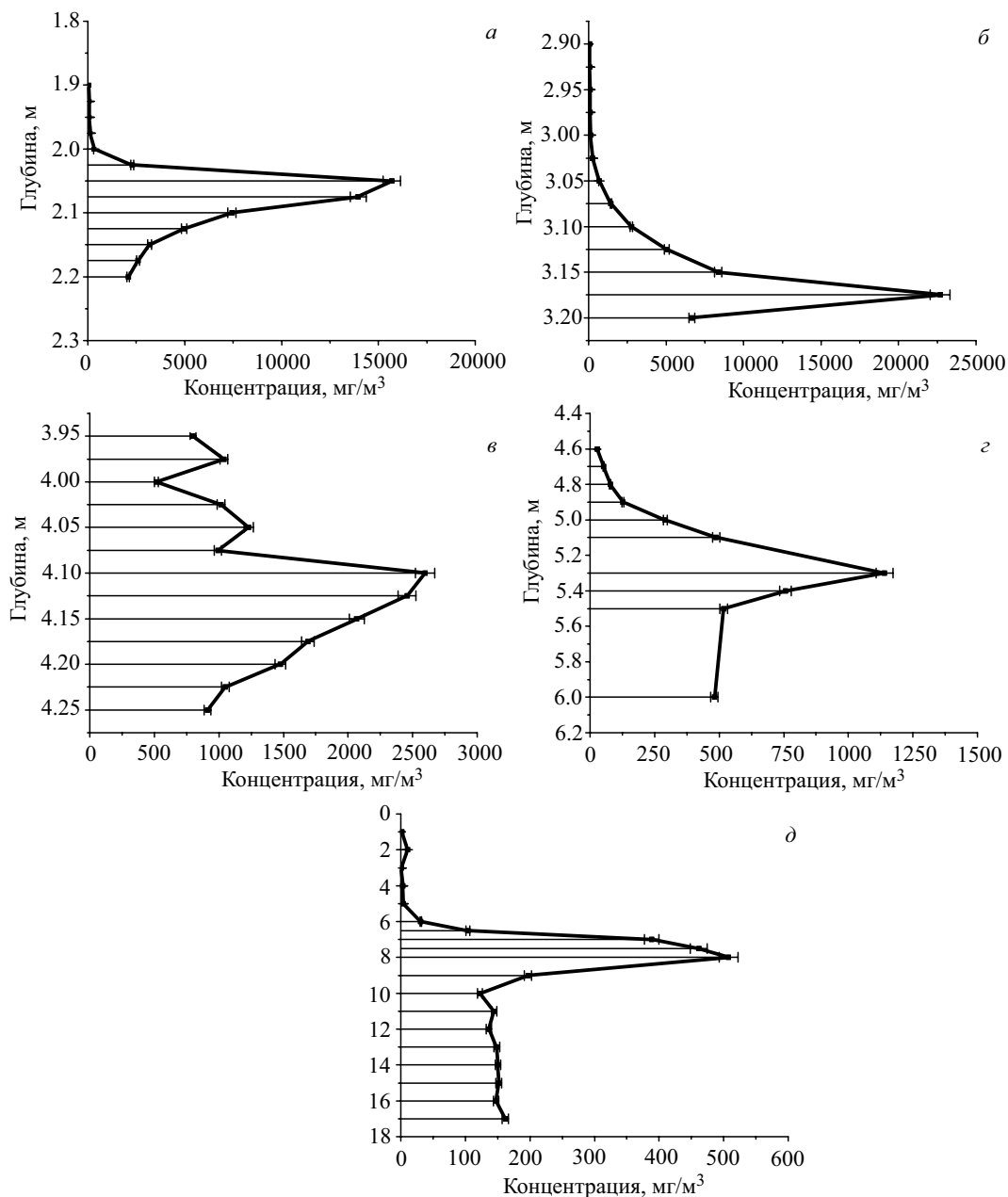


Рис. 4. Распределение концентрации Бхл в водоемах: а — оз. Трехцветное (отбор проб многошприцевым пробоотборником, сентябрь 2019 г.); б — оз. Еловое (отбор проб многошприцевым пробоотборником, сентябрь 2019 г.); в — оз. Большие Хрусломены (отбор проб многошприцевым пробоотборником, сентябрь 2019 г.); г — лагуна на Зеленом мысе (отбор проб погружаемым насосом, сентябрь 2019 г.); д — оз. Могильное (отбор проб погружаемым насосом, июнь 2019 г.).

Концентрации рассчитаны по эмпирической формуле для спектров поглощения света клетками ЗСБ в воде

и упростить процесс определения концентраций Бхл и построения вертикальных профилей распределения Бхл по глубине и потенциально может применяться для определения концентраций Бхл непосредственно в водоеме без отбора проб при использовании погружаемого спектрофотометра.

Авторы благодарят сотрудников Института микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН Ольгу Николаевну Лунину и Александра Сергеевича Саввичева за предоставление культур зеленых серных бактерий для исследования и плодотворное обсуждение полученных результатов.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 19-05-00377) и с использованием финансовых средств Министерства науки и высшего образования РФ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bricaud A., Babin M., Morel A., Claustre H. // *J. Geophys. Res.* 1995. **100**, N C7. P. 13321.
2. Shipman L.L., Cotton T.M., Norris J.R., Kat J.J. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1976. **98**, N 25. P. 8222.
3. Шапоренко С.И., Корнеева Г.А., Пантюлин А.Н., Перцова Н.М. // *Водные ресурсы.* 2005. **32**, № 5. С. 517. (Shaporenko S.I., Koreneva G.A., Pantyulin A.N., Pertsova N.M. // *Water Resources.* 2005. **32**, N 5. P. 469)
4. Романенко Ф.А., Шилова О.С. // *ДАН.* 2012. **442**, № 4. С. 544. (Romanenko F.A., Shilova O.S. // *Doklady Earth Sciences.* 2012. **442**, N 2. P. 242)
5. Krasnova E., Voronov D., Frolova N. et al. // *EARSeL eProceedings.* 2015. **14**, N S1. P. 8.
6. Krasnova E. D., Kharcheva A. V., Milyutina I. A. et al. // *J. Mar. Biol. Assoc. UK.* 2015. **95**, N 8. P. 1579.

7. Лунина О. Н., Саввичев А. С., Пименов Н. В. и др. // *Микробиология*. 2014. **83**, № 1. С. 90. (Lunina O. N., Savvichev A. S., Kuznetsov B. B. et al. // *Microbiology*. 2013. **82**. P. 815)
8. Grouzdev D. S., Lunina O. N., Gaisin V. A. et al. // *Microbiol. Resource Announcements*. 2019. **29**, N 8. e00711.
9. Overmann J., Tilzer M. // *Aquatic Sciences*. 1989. **51**, N 4. P. 261.
10. Stramski D., Kiefer D. A. // *Progress in Oceanography*. 1991. **28**, N 4. P. 343.
11. Overmann J. *Green sulfur bacteria*. Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons, Ltd, 2001.
12. Hohmann-Marriott M. F., Blankenship R. E. // *FEBS Letters*. 2007. **581**, N 5. P. 800.
13. Stanier R. Y., Smith J. H. C. // *Biochim. Biophys. Acta*. 1960. **41**. P. 478.
14. Borrego C. M., Arellano J. B., Abella C. A. et al. // *Photosynth. Res.* 1999. **60**. P. 257.
15. Permentier H. P., Schmidt K. A., Kobayashi M. et al. // *Photosynth. Res.* 2000. **64**. P. 27.
16. Жильцова А. А., Харчева А. В., Краснова Е. Д. и др. // *Оптика атмосферы и океана*. 2018. **31**, № 3. С. 233. (Zhiltsova A. A., Kharcheva A. V., Krasnova E. D. et al. // *Atmospheric and Oceanic Optics*. 2018. **31**, N 4. P. 390.)
17. Kharcheva A. V., Zhiltsova A. A., Lunina O. N. et al. // *Proceedings of SPIE*. 2016. **99170P**. P. 1.
18. Kharcheva A., Zhiltsova A., Emelyantsev P. et al. // *EARSeL eProceedings*. 2018. **17**, N 1. P. 7.
19. Merzlyak M. N., Razi Naqvi K. // *J. Photochem. Photobiol. B: Biology*. 2000. **58**, N 2–3. P. 123.
20. Хунджуа Д. А., Пацаева С. В., Трубецкой О. А., Трубецкая О. Е. // *Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон.* 2017. № 1. С. 66. (Khundzhua D. A., Patsaeva S. V., Trubetskoy O. A., Trubetskaya O. E. // *Moscow Univ. Phys. Bull.* 2017. **72**, N 1. P. 68.)
21. Гостева О. Ю., Изосимов А. А., Пацаева С. В. и др. // *ЖПС*. 2011. **78**, № 6. С. 943. (Gosteva O. Yu., Izosimov A. A., Patsaeva S. V. et al. // *Journal of Applied Spectroscopy*. 2012. **78**, N 6. P. 884)
22. Kharcheva A. V., Krasnova E. D., Voronov D. A., Patsaeva S. V. // *Proc. SPIE*. 2015. **9448**. 94480I–1.
23. Kharcheva A. V., Krasnova E. D., Gorlenko V. M. et al. // *Proc. SPIE*. 2016. **9917**. 99170Q–1.
24. Харчева А. В., Жильцова А. А., Лунина О. Н. и др. // *Вестн. Моск. ун-та. Физ. Астрон.* 2018. № 4. С. 40. (Kharcheva A. V., Zhiltsova A. A., Lunina O. N. et al. // *Moscow Univ. Phys. Bull.* 2018. **73**, N 4, P. 377.)

Quantification of Chlorosomal Bacteriochlorophylls Using Absorption Spectra of Green Sulfur Bacteria in Natural Water

P. S. Emelyantsev^{1,a}, A. A. Zhiltsova^{1,b}, E. D. Krasnova^{2,c}, D. A. Voronov^{3,4}, V. V. Rymar¹, S. V. Patsaeva¹

¹Department of General Physics, Faculty of Physics, Lomonosov Moscow State University. Moscow 119991, Russia.

²Faculty of Biology, White Sea Biological Station, Lomonosov Moscow State University. Murmansk Region, Kandalaksha District 184042, Russia.

³Institute for Information Transmission Problems RAS (Kharkevich Institute). Moscow 127051, Russia.

⁴Lomonosov Moscow State University, Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology. Moscow 119992, Russia.

E-mail: ^aemelyantsev97@mail.ru, ^baa.zhiltsova@physics.msu.ru, ^ce_d_krasnova@mail.ru.

A non-extraction method for determining the concentration of chlorosomal bacteriochlorophylls (Bchl), photosynthetic pigments of green sulfur bacteria has been developed and tested. The method is based on the measurement of optical density spectra of microorganisms directly in natural water and is aimed at simplifying Bchl concentration measurements, reducing the measurement time and eliminating toxic solvents from the experiments. Comparison of the results of Bchl concentration determination by the traditional method based on the measurement of absorption spectra of pigment extracts and the new method that is based on the measurement of long wavelength absorption band of Bchl in bacterial cells in natural water showed a high correlation coefficient from 0.9866 to 0.9991 for different series of samples. The depth distribution profiles of Bchl concentration obtained from the absorption spectra of natural water in some meromictic reservoirs of the White Sea region in September 2019 and Lake Mogilnoye (Barents Sea) in June 2019 are presented.

Keywords: spectroscopy, bacteriochlorophyll, green sulfur bacteria, concentration, pigments.

PACS: 33.20.-t, 42.62.Be, 42.68.Xy.

Received 25 December 2019.

English version: *Moscow University Physics Bulletin*. 2020. **75**, No. 2. Pp. 137–142.

Сведения об авторах

1. Емельянцева Павел Сергеевич — студент-магистр; e-mail: emelyantsev97@mail.ru.
2. Жильцова Анна Александровна — аспирант; e-mail: aa.zhiltsova@physics.msu.ru.
3. Краснова Елена Дмитриевна — канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник; e-mail: e_d_krasnova@mail.ru.
4. Воронов Дмитрий Анатольевич — канд. биол. наук, ст. науч. сотрудник; e-mail: da_voronov@mail.ru.
5. Рымарь Валерия Всеволодовна — студент-бакалавр; e-mail: fioletta@72f.ru.
6. Пацаева Светлана Викторовна — канд. физ.-мат. наук, доцент; e-mail: spatsaeva@mail.ru.