

Indices biochimiques et milieux marins. Journées du GABIM, Brest, 18-20 Nov. 1981
Publi. CNEXO (Actes Colloq.) n. 14, 1982, p. 87 à 96

L'OXYGENE SINGULET (1O_2) DANS LES EAUX DE MER

par

A. MOMZIKOFF (*) R. SANTUS (**) M. GIRAUD (***)

R E S U M E

— La présence de l'oxygène singulet (1O_2) dans l'eau de mer est détectée en utilisant le tryptophane comme intercepteur. On constate que la distribution de 1O_2 varie suivant la profondeur et la station, et doit être vraisemblablement corrélée à celle de la matière organique dissoute et particulaire. La mesure de 1O_2 dans l'eau de mer peut être considérée comme un nouveau paramètre océanographique. —

A B S T R A C T

— Singlet oxygen (1O_2) is detected in seawater by using tryptophan as interceptor. It is shown that its distribution varies according to the depth and the station, and is presumably correlated to dissolved and particulate matter contents of the water. 1O_2 distribution in seawater may be considered as a new oceanographic parameter. —

M O T S C L E S : Oxygène singulet, eau de mer, Méditerranée.

K E Y W O R D S : Singlet oxygen, seawater, Mediterranean Sea.

(*) Institut Océanographique, Laboratoire de Physiologie des Etres Marins, 195, rue Saint-Jacques, 75005 Paris.

(**) Laboratoire de Physico-Chimie de l'Adaptation Biologique, Muséum National d'Histoire Naturelle, 43, rue Cuvier, 75231 Paris Cédex 05.

(***) Laboratoire de Chimie Organique, Muséum National d'Histoire Naturelle, 63, rue Buffon, 75005 Paris.

INTRODUCTION

L'oxygène singulet (1O_2) est une espèce chimique excitée de l'oxygène qui prend naissance lors de réactions photodynamiques. Sa durée de vie est courte, de l'ordre de quelques 10^{-6} secondes, mais c'est une espèce particulièrement réactive. Sa présence dans le milieu réactionnel conduit essentiellement à des réactions d'oxydation de substrat.

La présence de 1O_2 dans les eaux douces a été mise en évidence par ZEPP et al. (1977) dans les eaux de rivières de Floride, puis par WOLF et al. (1981) dans celles des Pays-Bas. Ces auteurs ont attribué sa formation dans les couches exposées à la lumière, à la présence des acides humiques et fulviques; on sait en effet que certaines fractions de ces acides ont des propriétés photosensibilisatrices (ZEPP, *ibid.*). Avant d'aborder les données que nous avons obtenues sur 1O_2 dans les eaux de mer, il nous paraît nécessaire de faire le rappel des notions de photochimie liées à ce problème.

Une réaction photochimique débute en effet lorsqu'une molécule absorbe un photon de la plage UV/VIS du spectre solaire correspondant à sa ou ses bande(s) d'absorption. L'énergie de ce photon porte cette molécule, initialement dans un état fondamental, dans un état électroniquement excité, généralement un état singulet, de durée de vie courte ($\leq 10^{-9}$ sec) qui suivant la molécule considérée et les conditions du milieu, ou bien se désactive vers l'état fondamental soit radiativement par fluorescence, soit non radiativement, ou bien est amenée par conversion singulet-triplet à une espèce excitée dite triplet de durée de vie relativement plus longue ($10^{-6} - 10^{-8}$ seconde). Dans son état triplet cette molécule peut transférer son énergie sous forme chimique à une autre molécule; on parle dans ce dernier cas de réaction photochimique sensibilisée, et la molécule portée dans son état triplet s'appelle le photosensibilisateur.

Lorsqu'une réaction photochimique sensibilisée nécessite de l'oxygène, on parle de réaction photodynamique. Ici deux cas se présentent: lorsque l'oxygène lui-même est l'accepteur de l'énergie du triplet du sensibilisateur, il se forme de l'oxygène singulet; la réaction est dite de type II. La réaction est de type I lorsque le substrat est directement oxydé par le triplet du sensibilisateur. Les réactions de type I peuvent s'accompagner de la formation d'ion super-oxyde (O_2^-), autre forme activée de l'oxygène, et se produisent généralement lorsque la concentration du substrat est relativement élevée.

En milieu marin, compte tenu des valeurs élevées des tensions en oxygène (10^{-4} M au minimum) et des valeurs relativement plus faibles de la concentration en matière organique dissoute (M. O.D.), qui sont de l'ordre du mg/litre, les réactions de type II paraissent comme les plus probables.

On le voit, l'étude de 1O_2 dans les eaux naturelles comporte deux aspects:

- 1- celui de la compréhension des mécanismes de sa formation,
- 2- celui des méthodes de sa détection et de son dosage.

Le premier aspect repose essentiellement sur la connaissance, actuellement relativement limitée, de la nature chimique et des propriétés physico-chimiques des molécules photosensibilisatrices effectivement présentes dans la M.O.D. ainsi que sur leur micro-environnement chimique.

Compte tenu des données actuelles, il est effectivement raisonnable de supposer par analogie avec ZEPP, et WOLF (ibid) qu'une fraction importante de l' 1O_2 produit en mer doit être, là aussi, corrélée avec les acides humiques et fûlviqes marins, notamment du fait de leur importance quantitative. Il n'empêche qu'une fraction non négligeable puisse revenir à la présence de molécules photosensibilisatrices de types différents, déjà identifiées dans la M.O.D. ou susceptibles de s'y trouver, et provenant soit de l'excrétion d'organismes vivants ou de la décomposition de ceux-ci, telles que les chlorophylles et leurs dérivés, soit d'apports terrigènes ou anthropogènes comme des hydrocarbures qui se trouvent dans les goudrons.

Parmi les sensibilisateurs déjà identifiés dans la M.O.D., il faut citer les flavines et les ptérines. Les propriétés sensibilisatrices des flavines sont connues depuis longtemps, celles des ptérines n'ont été mises en évidence que depuis peu. Ainsi nous avons d'abord caractérisé les états excités de la ptérine (CHAHIDI et coll., 1981), puis comparé les propriétés sensibilisatrices des ptérines avec celles de la riboflavine (MOMZIKOFF et SANTUS, 1981, MOMZIKOFF et al., 1982) en utilisant notamment le tryptophane comme substrat-type de l' 1O_2 . Les cinétiques de dégradation du Trp nous ont ainsi permis, d'une part de mettre en évidence des différences dans les propriétés photosensibilisatrices des composés testés, et d'autre part, ce qui pouvait être attendu, des corrélations directes entre le taux de destruction du Trp et la concentration en sensibilisateur.

Ces résultats nous ont amené à utiliser le substrat Trp comme réactif de l' 1O_2 dans les eaux de mer naturelles et à introduire le terme de potentialité (ou efficacité) photosensibilisatrice d'un échantillon d'eau de mer (P.S.E. = photosensitizing efficiency).

En effet, puisque l'eau de mer contient divers sensibilisateurs connus ou non en concentrations différentes, et chacun capable de générer de l' 1O_2 dans des conditions d'irradiation appropriées, le taux du Trp ajouté à l'échantillon qui est détruit au cours de l'irradiation peut en effet mesurer la quantité d' 1O_2 produit par l'ensemble des divers sensibilisateurs présents. Le taux de Trp détruit est précisément ce que nous avons appelé P.S.E. Une telle corrélation s'exprime de la façon suivante:

$$[^1O_2] \propto I_0(\lambda) \cdot \Delta t \cdot l \sum_{i=0}^{i=n} \epsilon_i(\lambda) \cdot c_i \cdot \phi_{Ti}$$

elle intègre les différents paramètres impliqués:

$I_0(\lambda)$: caractérise l'intensité lumineuse aux longueurs d'onde d'irradiation,

Δt : la durée d'irradiation,

l : la longueur du trajet optique de la cuve de mesure,

$\epsilon_i(\lambda)$ les coefficients d'extinction des sensibilisateurs aux longueurs d'onde d'irradiation,

c_i : leurs concentrations respectives,

ϕ_{Ti} : les rendements quantiques de formation des triplets de ces mêmes sensibilisateurs en supposant qu'ils ne dépendent pas de la longueur d'onde d'excitation,

n : nombre de photosensibilisateurs.

En ce qui concerne la dégradation sensibilisée du Tryptophane il est bien établi qu'elle est de type I ou de type II suivant les conditions du milieu réactionnel; comme nous l'avons vu, celles de l'eau de mer favorisent le type II. Dans ce dernier cas, le premier photoproduit du Trp est la N'-formyl-cynurénine qui est elle-même un agent photosensibilisateur vis-à-vis du tryptophane; sa formation amplifie la dégradation du tryptophane, ce qui constitue un avantage pour mettre en évidence la dégradation de faibles quantités d'intercepteur. Un autre avantage présenté par le Trp est l'absence de bandes d'absorption dans le visible ou le proche U-V, zone où absorbent précisément les photosensibilisateurs, ce qui évite les risques de photolyse directe de cet intercepteur.

MATERIEL ET METHODES

- prélèvements d'eau de mer:

Les échantillons sont prélevés avec une bouteille à renversement MECABOLIER de 1 litre en polycarbonate. 50 ml d'eau sont congelés sans filtration, une même quantité est aussitôt filtrée sur membrane de fibre de verre Whatman GF/C sous 0,3 bar de dépression.

Trois stations sont faites suivant une radiale MONACO-CALVI (Mer Méditerranée):

-une première série de trois stations près du continent situées respectivement à 0,2 (st. Ma), 2 (st. Mb) et 10 nautiques (st. Mc) de la côte, les fonds allant de 200 à 600m,

-une station I, intermédiaire entre le continent et la Corse (fond \approx 2000 m

-une station C, située à 8 nautiques de CALVI, sur un fond de 1000-1100 m

- irradiations:

A chaque échantillon d'eau (10 ml), on ajoute 0,5 ml de Trp à $2 \cdot 10^{-4} M$ en solution dans l'eau de mer synthétique (LYMAN et FLEMING, 1940). On irradie ensuite 3,2 ml de cette eau dans une cuve en quartz de 5 ml (1x1x1cm) placée devant une lampe Xe-Hg de 1000watts (ORIEL) suivie d'un filtre coupant les longueurs d'onde inférieures à 320 nm (durée d'irradiation 5 mm).

- dosage du tryptophane (Trp) :

Le Trp est dosé par la méthode d'ESCANDE et coll. (1977), dans laquelle le Trp en présence de formol et de perhydrol est quantitativement converti en norharmane qui est dosé par spectrofluorimétrie (excitation: 386 nm, fluorescence: 477 nm). Nous avons appelé "capacité photosensibilisatrice de l'échantillon d'eau de mer" (en anglais : P.S.E. = "photosensitizing efficiency", terme utilisé dans la suite du texte), le rapport multiplié par 100 de la quantité détruite, à la quantité initiale après déduction de la valeur du blanc (fluorescence des réactifs). Le seuil de détection est voisin de $10^{-8} M$. La précision des mesures est de l'ordre de 5 %. Les irradiations sont faites en double.

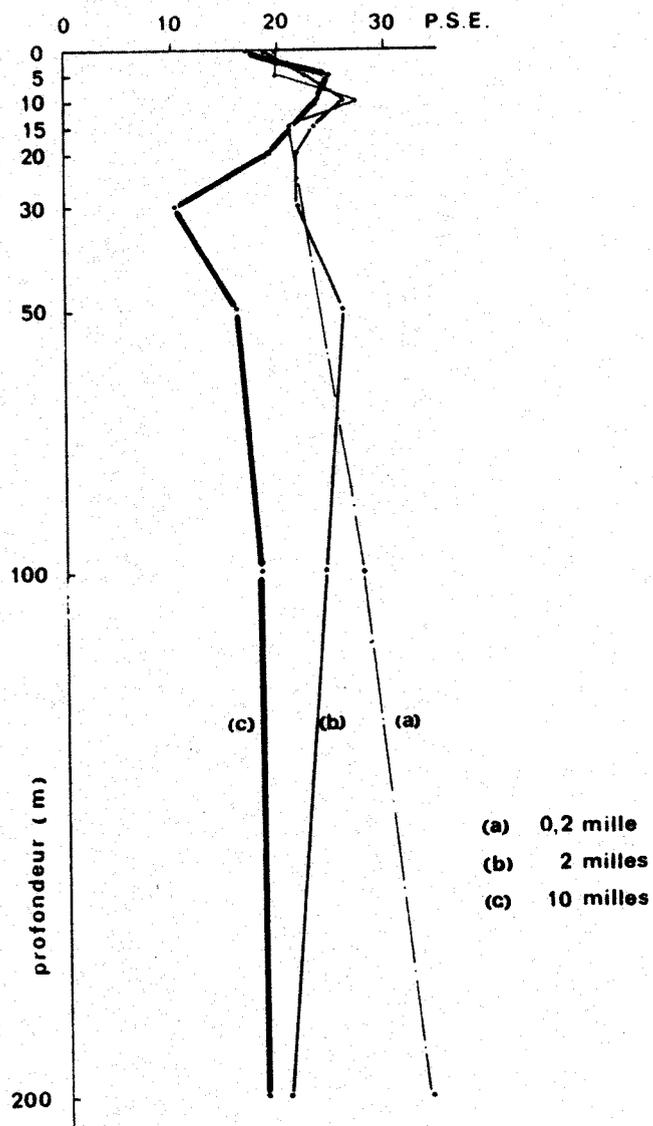


Fig. 1. - Stations M(a, b, c), à 0,2n (st.Ma), 2n (st.Mb et 10n (st.Mc) de MONACO. Variations de la P.S.E. ("Photosensitizing Efficiency") suivant la profondeur et la station.

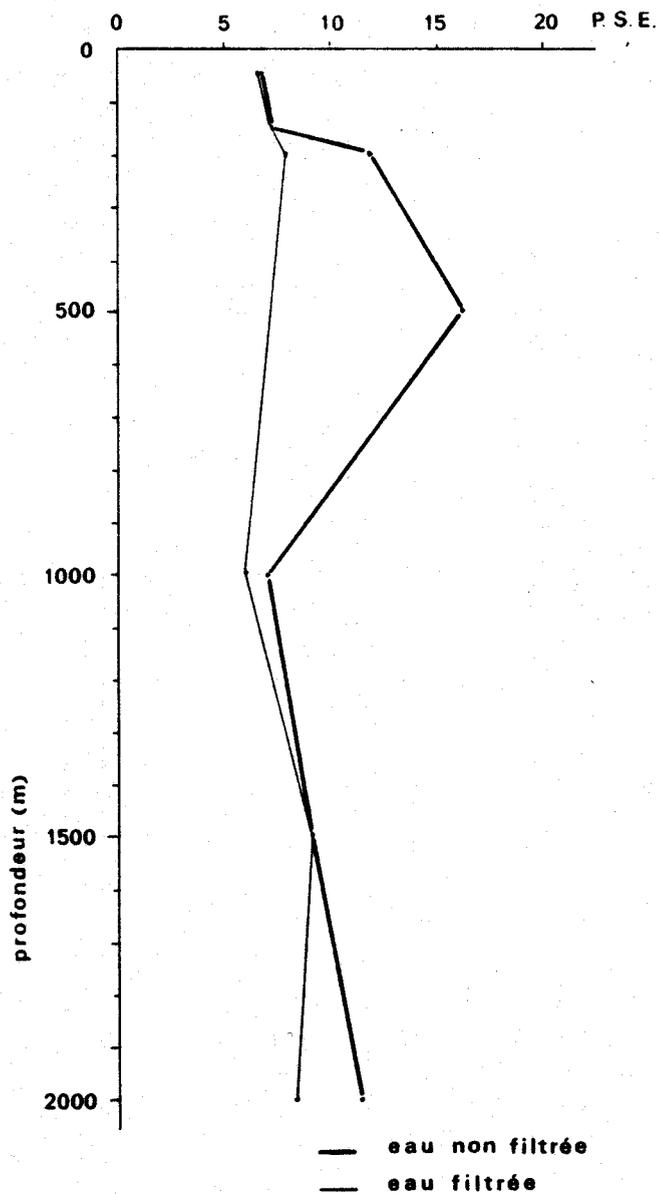


Fig. 2. - Station I, située au milieu de la radiale MONACO-CALVI (voir fig.1)

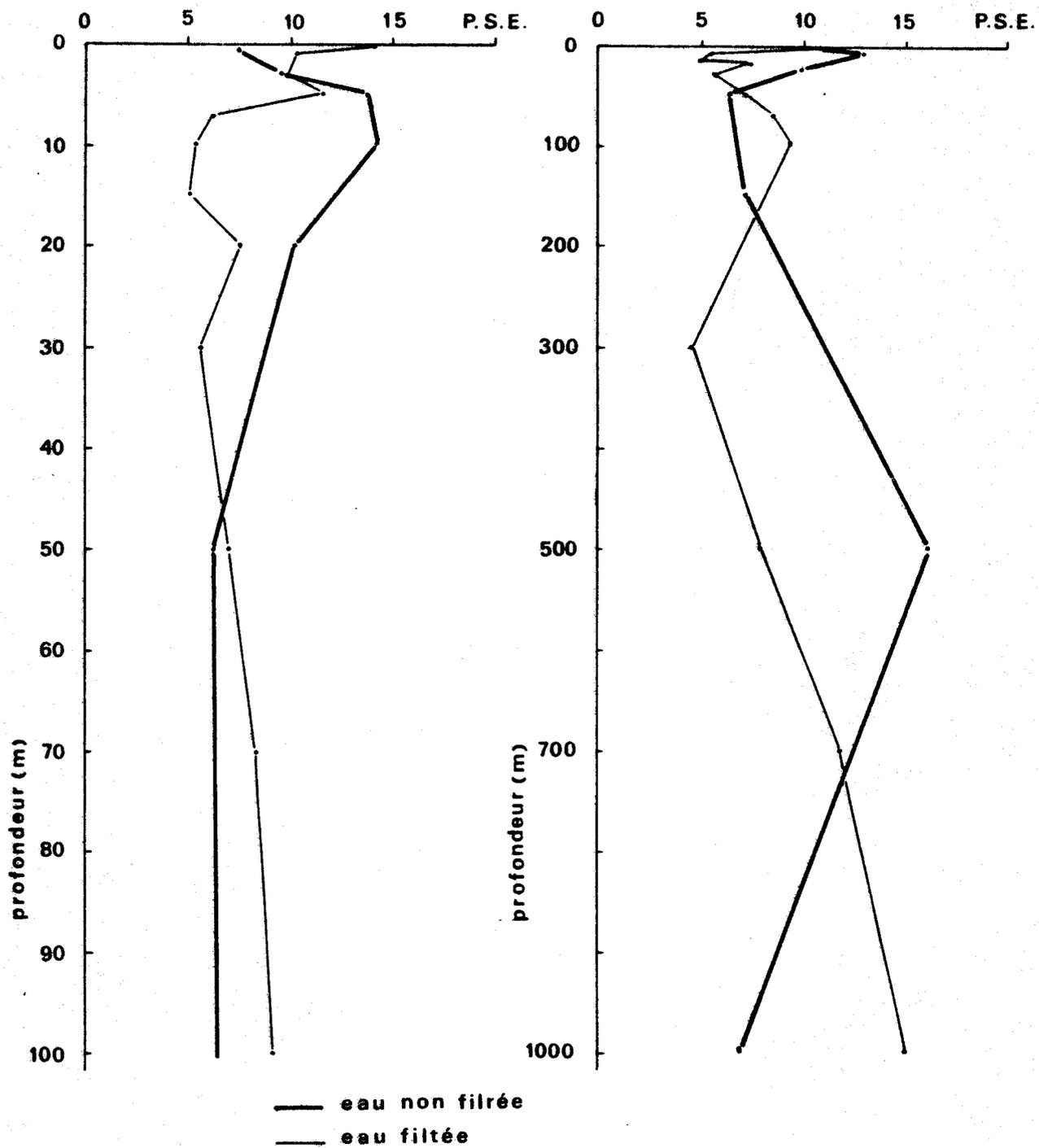


Fig. 3.- Station C, située à 8 nautiques de CALVI (voir fig.1)

RESULTATS

- stations M (a, b, c): (fig. 1)

Pour ces trois stations près du continent, les valeurs de P.S.E. concernent l'eau non filtrée seulement. Ainsi, on constate que (figure 1):

- la moyenne des valeurs pour chaque colonne d'eau s'accroît à mesure que l'on s'approche de la côte, ainsi : P.S.E. = 18,6 à 10 nautiques (station Mc) ; 22,7 à 2 n (st. Mb) et 24,8 à 0,2 n (st. Ma).

- les valeurs de P.S.E. s'accroissent depuis la surface jusqu'au fond pour la station la plus proche de la côte (st. Ma),

- les variations de P.S.E. suivant la profondeur sont aléatoires pour la station intermédiaire (st. Mb), alors que pour le large, si l'on excepte la valeur à -30m, la moyenne pour la couche supérieure (0-20m) est supérieure à la couche 50-200m, avec respectivement 21,0 contre 17,4 .

- station I: (fig. 2)

A la station I, située entre la Corse et le continent, on observe surtout un accroissement important de P.S.E. à -500 m pour l'eau non filtrée (16,2), alors que les variations correspondantes pour l'eau filtrée ne sont pas significatives. Les moyennes pour l'eau non filtrée et l'eau filtrée sont respectivement: 9,9 et 7,5.

- station C: (fig. 3)

En ce qui concerne l'eau non filtrée, près de la Corse comme près du continent (st. Mc), on observe des valeurs plus fortes dans les 50 premiers mètres (10,3) contre 9,1 pour la couche 100-1000 mètres, et comme pour la station I, un maximum à -500 m (15,1).

Pour l'eau filtrée, les variations des valeurs de P.S.E. sur l'ensemble de la colonne d'eau ne sont pas significatives, mais on constate néanmoins une décroissance des valeurs entre 0 et 30 m, et une remontée à partir de 300m jusqu'à 1000m.

Ici également, la moyenne pour l'eau non filtrée est supérieure à celle pour l'eau filtrée: 9,90 contre 8,86.

DISCUSSION

WOLFF et al (1981) ont établi une corrélation positive entre la concentration en $^{14}O_2$ et celle en matière organique totale de certaines eaux douces. La distribution des valeurs de P.S.E. qui traduit les variations de la teneur en substances photosensibilisatrices de la M.O.D., présente elle aussi un même type de corrélation, dans la mesure où en l'absence de données relatives à la M.O.D. dans nos mesures, on tient compte de ce que l'on sait de la répartition de cette M.O.D. Ainsi :

- pour l'eau filtrée, on constate que la moyenne des valeurs pour la station près de la Corse est supérieure à celle pour la station située entre la Corse et le continent: 8,8 contre 7,5 . Cette différence doit être très vraisemblablement attribuée au phénomène bien connu de l'augmentation de la M.O.D. près des côtes.

- pour l'eau non filtrée, les valeurs de P.S.E. concernent la M.O.D. de l'échantillon à laquelle s'ajoute la matière organique particulaire détritique et celle issue de la lyse des organismes. Ici les valeurs de P.S.E. sont plus caractéristiques. Les moyennes pour la Corse et le large, peu distinctes entre elles (9,9 et 9,9), sont très inférieures à celles relatives aux trois stations près du continent, où l'on observe une augmentation depuis le large vers la côte (18,6 à 24,8). Compte tenu des données relatives à l'eau filtrée, ces différences doivent être très vraisemblablement attribuées ici à l'augmentation de la biomasse et aux pollutions diverses près des côtes.

- en ce qui concerne les variations des valeurs de P.S.E. suivant la profondeur, les valeurs élevées dans la couche de surface pour l'eau non filtrée peuvent être attribuées à la matière organique de la biomasse. On peut supposer que les fortes valeurs observées à -500m puissent provenir d'accumulation de matériel détritique ou être éventuellement reliées à l'existence du minimum de tension d'oxygène dans les eaux intermédiaires à cette profondeur (GOSTAN, 1968).

Nous avons trouvé des profils semblables pour des stations effectuées dans la même zone et à la même période de l'année (MOMZIKOFF et coll., sous presse); toutefois le profil le plus caractéristique qui met en évidence une décroissance progressive des valeurs de P.S.E. depuis la surface aussi bien pour l'eau filtrée que non filtrée, a été observé en automne. Il est possible que l'accumulation de M.O.D. et de matériel particulaire détritique résultant des successions de populations avant l'époque hivernale soit à l'origine de cette stratification. L'absence d'une telle stratification dans les profils obtenus en avril-mai pourrait être reliée à cette différence saisonnière.

CONCLUSION

L'utilisation du tryptophane comme intercepteur d'oxygène singulet permet de mettre en évidence les variations de sa distribution suivant la profondeur et la station. On constate que les plus fortes concentrations en O_2 , exprimées en P.S.E. (Potentialité Photosensibilisatrice de l'Echantillon) se trouvent essentiellement dans les eaux de surface et près des côtes, riches en matière organique dissoute et particulaire. D'autres données obtenues dans la même région, mais à d'autres époques (MOMZIKOFF, 1982) suggèrent aussi l'influence du facteur saisonnier sur cette distribution.

BIBLIOGRAPHIE

- CHAHIDI C., AUBAILLY M., MOMZIKOFF A., BAZIN M., SANTUS R. (1981)
Photophysical and photosensitizing properties of 2-amino-4-pteridinone, a natural pigment.
Photochem. Photobiol., 33, 641-649
- ESCANDE C., BOUSQUET B., DREUX C. (1977)
Dosage fluorimétrique du tryptophane libre et total dans le plasma sanguin.
Ann. Biol. Clin., 35, 387-395

GOSTAN J. (1968)

Contribution à l'étude du bassin liguro-provençal entre la Riviera et la Corse: distributions et variations saisonnières de la température, de la salinité, de l'oxygène et des phosphates minéraux dissous dans les masses d'eau superficielles, intermédiaire et profonde.
Thèse de Doctorat d'Etat, Paris, 1968.

LYMAN J., FLEMING R.H. (1940)

Composition of sea water
J. mar. Res., 3, 134-146.

MOMZIKOFF A., SANTUS R. (1981)

Sur les propriétés photosensibilisatrices des ptérides. Exemple de la bioptéride. Comparaisons avec la riboflavine.
C.R. Acad. Sc., Paris, 293, 15-18.

MOMZIKOFF A., SANTUS R., GIRAUD M. (1982)

A study of the photosensitizing properties of sea water.
Mar. chem. (sous presse).

WOLFF C.J.M., HALMANS M.T.H., VAN DER HEIJDE H.B. (1981)

The formation of singlet oxygen in surface waters.
Chemosphere, 10, 59-62.

ZEPP R.G., LEE WOLFF N., BAUGHMAN G.L., HOLLIS R.C. (1977)

Singlet oxygen in natural waters
Nature, 267, 421-423.