

ГЛАВНОЕ УПРАВЛЕНИЕ ГИДРОМЕТЕОРОЛОГИЧЕСКОЙ
СЛУЖБЫ ПРИ СОВЕТЕ МИНИСТРОВ СССР

*ОТДЕЛЕНИЕ ОРДЕНА ЛЕНИНА ГИДРОМЕТЕОРОЛОГИЧЕСКОГО
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОГО ЦЕНТРА СССР
ПО СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКЕ И ХРАНЕНИЮ ДАННЫХ*

УДК 535. 37 : 551 463

В.Е. СИНЕЛЬНИКОВ

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ВОД СУШИ И МОРЯ

ОТДЕЛ НАУЧНО - ТЕХНИЧЕСКОЙ ИНФОРМАЦИИ
ОБНИНСК 1971

Обзор подготовлен
в Институте биологии внутренних вод АН СССР

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Председатель - ГРУЗА Г.В.

Зам. председателя - ЧЕРНОВ Ю.С.,

Члены: БЕЛЯЕВ Ю.И., КУЧМЕНТ Л.С.,

МИНИНА Л.С., ПОПОВА М.А.,

ФИЛИПОВ В.В.

34081

ВВЕДЕНИЕ

Весьма разнообразны приёмы и методы люминесцентного анализа, применяемого для изучения мирового океана и водоемов суши. Они отражают тот стремительный прогресс в физике, который в наше время существенным образом сказывается на характере развития наук о гидросфере. Явление люминесценции утвердило себя не только как чувствительный и быстрый аналитический метод, но и как обширный источник информации о событиях, происходящих на уровне атомов и молекул [25, 29, 43, 246]. Особенно преимущества люминесцентного метода видны в исследованиях, касающихся поглощения, концентрирования и миграции энергии в физико-химических и биологических средах.

В гидрохимии люминесцентный метод используется для определения в водах многих биологически важных веществ и соединений, загрязняющих водоёмы. В санитарной гидробиологии излучение света биологическими системами рассматривается как приём для выявления в клетках водных организмов тонких реакций и начальных изменений, происходящих под влиянием различных факторов среды, в том числе и для выявления влияния веществ, поступающих в водоёмы со стоками. Интересно применение явления биолюминесценции для изучения звуко-рассеивающих слоёв в океане. Описаны способы мечения водных масс [232], береговых наносов и организмов люминесцирующими красителями [280, 281]. Явление хемилюминесценции применяется для изучения механизма превращения веществ в природных и загрязнённых водах. Но возможности люминесцентного метода реализованы науками о гидросфере еще далеко не в полной мере. Этот обзор представляет собой продолжение первой работы, посвященной люминесцентному анализу природных и загрязнённых вод, напечатанной в 1968 г.*) Задача обзора состоит не только в том, чтобы описать те методы и исследования, в которых используется явление люминесценции, но и информировать читателя об использовании рассматриваемых явлений применительно к возможным исследованиям в области гидрохимии и гидробиологии.

Теоретические основы люминесцентного метода и описание связанных с ним квантово-механических представлений изложены в фундаментальных изданиях, вышедших за последнее время [135, 230, 268]. Для начинающих работать в области люминесцентного анализа ценными практическими пособиями могут оказаться книги Ю.А. Владимирова и Ф.Ф. Литвина [31], Е.А. Божевольного (1966)^{ж)}, Т.З. Баранской, А.А. Ильиной, В.Н. Флоровской (1966)^{ж)}, В.А. Шляпникова и соавторов [209]. Хотя объекты исследования этих авторов не были свя-

*) С целью сокращения объема обзора работы, помеченные значком ж), в списке литературы не приводятся.

заны с водоемами, они содержат много сведений, необходимых непосредственно для работы.

Результаты исследования люминесцентного метода во многом зависят от оснащения аппаратурой. Значительная часть наложенных в этом обзоре приёмов и методов может быть осуществлена с помощью серийных оптических приборов и стандартных электронных блоков. Но нередко задачи исследований значительно опережают возможности стандартной техники, а введение некоторых новых приспособлений (криостатов, интерференционных светофильтров, фотоэлектронных умножителей, фотоэлектронных преобразователей) позволяет получить совершенно новые результаты. Поэтому в ряде случаев даны ссылки на описание некоторых несерийных приборов и новых узлов [80, 146, 151, 167, 206] .

Работы по изучению люминесцентных свойств природных и загрязнённых вод ведутся в институте биологии внутренних вод АН СССР в течение семи лет. В некоторой степени эта работа подводит итоги накопившемуся опыту. Автор пользуется случаем, чтобы сердечно поблагодарить Н.В. Буторина, С.М. Драчёва, Е.Т. Денисова, Ю.А. Владимирова, А.А. Ильину, Д.И. Родупкина, В.Я. Шляпникова, чьи советы и помощь способствовали его работе.

Г л а в а I

ИЗЛУЧЕНИЕ СВЕТА МОЛЕКУЛАМИ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Первичные процессы, сопровождающиеся излучением света, связаны с поглощением молекулой определенного количества энергии и с переходом её в возбужденное состояние. Такой акт сопровождается переходом молекулы из одного энергетического состояния в другое. Но этот переход произойдёт только в том случае, если поглощенная электроном порция энергии точно соответствует разности энергии между основным и возбужденным уровнем, т.е. электрон поглощает не любой фотон, а только тот, энергия которого позволяет электрону выйти на возможный для него (разрешенный) энергетический уровень. Возврат электрона на основной уровень у люминесцирующих молекул сопровождается отдачей энергии в виде излучения, так же строго определенной по величине, т.е. излучением с точно известной для данного случая длиной волны. По максимумам в спектрах поглощения определяется энергия поглощенного кванта света, а по максимумам в спектрах флуоресценции — энергия излучаемого кванта (табл. I).

Остановимся на одной из характеристик, на которой основывается классификация явлений люминесценции, её длительности [270] . Длительность пребывания в возбужденном состоянии при отсутствии безызлучательных процессов связывается с естественным временем жизни возбужденной молекулы, которое характеризуется средним ста-

тистическим временем существования возбужденного состояния (τ). Определение этой величины имеет большое значение для анализа процессов, вызываемых в молекулах поглощением фотонов. Длительность возбужденного состояния определяется сохраняющимся в молекуле запасом электронной энергии. Это условие необходимо для эффективного её использования при всякой реакции с другими молекулами или средой. Молекулы, способные к флуоресценции, а особенно к фосфоресценции, длительно сохраняют не только повышенную энергию, но также и состояние валентной ненасыщенности.

Таблица I

Длина волны и энергия поглощенного или излучаемого кванта

Длина волны, нм	Энергия кванта, ккал/мол.	Длина волны, нм	Энергия кванта, ккал/мол.	Длина волны, нм	Энергия кванта, ккал/мол.
200	142,3	400	71,1	600	47,4
250	113,8	450	63,2	650	42,8
300	94,9	500	56,9	700	40,6
350	81,3	550	51,7	750	38,0
				800	35,6

К фундаментальному открытию, которое объясняет, каким образом кванты с малыми энергиями могут участвовать в фотохимических процессах, требующих больших энергетических затрат, относится исследование кооперативной люминесценции конденсированных сред [129]. Авторы показали, что суммирование энергии, поглощенной молекулой, осуществляется не путём последовательного поглощения квантов, а посредством специфического механизма взаимодействия возбужденных частиц, приводящих к накоплению энергии возбуждения на одной из них.

К процессам, связанным с взаимодействием возбужденных и не-возбужденных частиц, относятся проявления фотодинамического эффекта, сенситизированное фотоокисление, а также явление тушения (деградация энергии электронного возбуждения в тепло при попадании её на частицу - тушитель).

Эти краткие примеры иллюстрируют возможность использования явления люминесценции для изучения механизма превращения некоторых органических веществ под действием света.

Классификация явлений люминесценции и виды свечения природных вод

Классификация различных видов люминесценции обсуждается в фундаментальных руководствах [185]. Классифицируются явления, связанные с излучением света, прежде всего в зависимости от характера энергии, поглощенной молекулой. В принципе любой вид поглощенной энергии при соответствующих условиях может служить источником возбуждения люминесценции.

В природной воде как среде обитания организмов и сложной физико-химической системе, испытывающей влияние разнообразных внешних воздействий, обнаруживаются различные виды люминесценции (табл.2). Превращение веществ и энергии в биогидросфере, сопровождающееся свечением, можно разделить на два основных вида:

1. Собственное свечение водной среды, которое возникает в результате процессов жизнедеятельности организмов (биолуминесценция, сверхслабая биохемилюминесценция) и химические реакции между растворенными соединениями в природной воде (хемилюминесценция).

2. Индуцированная люминесценция, т.е. свечение, связанное с воздействием на водную среду внешних факторов: света, ионизирующего излучения, подогрева и т.д.

Собственное свечение водной среды очень невелико по интенсивности, так как природные воды представляют собой сильно разбавленные растворы, а живые обитатели (микроорганизмы, зоопланктон, фитопланктон) в них в сумме составляют не более 1/500 части её объёма. Спонтанное излучение света может быть обнаружено преимущественно в природных концентратах (поверхностной плёнке, пенной жидкости) и при его регистрации нужны установки для измерения очень слабых световых потоков (квантометры).

Свечение подавляющего большинства водных организмов весьма незначительно по интенсивности, за исключением некоторых видов, обитающих в море [37]. Собственное свечение природных концентратов из вод в замкнутом объёме характеризуется очень большой длительностью, так как оно сопровождает биохимические и химические реакции, которые в природных условиях развиваются очень медленно.

Индуцированная люминесценция, как правило, отличается высокой интенсивностью, а её яркость и продолжительность связаны с мощностью воздействующего внешнего фактора и условий среды (присутствия ингибиторов, тушителей). Она чаще используется для анализа вещественного состава, а явление собственной люминесценции — для изучения превращения веществ в водоёме. В этом утверждении немало исключений. Например, фотохемилюминесценция была использована автором обзора для изучения механизма деструкции легкораспа-

дающихся органических веществ, сумма которых определяется в воде с помощью перманганатной окисляемости.

Таблица 2

Виды люминесценции, обнаруженные в природных водах и при исследовании веществ, выделенных из них

Вид люминесценции	Источник возбуждения	Автор ^{Ж)}
Фотолюминесценция агрегированных молекул воды и льда	Фильтрованный ультрафиолетовый свет, 366 нм	И.К. Мусатов, 1954, 1960.
Фотолюминесценция растворенных в воде сложных органических соединений	Фильтрованный ультрафиолетовый свет, 366 нм	Е. Merker, 1935; К. Kalle, 1949. В.Е. Синельников, 1956, 1957.
Собственное свечение воды		
Фотолюминесценция природных вод	Солнечные лучи	Цит. по В.В. Шулейкину, 1953.
Хемилюминесценция концентратов из природных вод	Реакция окисления кислородом воздуха с участием свободных радикалов	В.Е. Синельников, 1968а
Спонтанная биолюминесценция морских игурикносов и других форм	Механическое раздражение	Clarke G., Breslan L., 1959. И.И. Гительзон, 1966.
Универсальная сверхслабая биохемилюминесценция фито- и зоопланктона	Реакция окисления в биологических средах	Цит. по А.И. Куравлёву, 1966, 1967.
Специальные виды люминесценции (индуцированная люминесценция):		
Фотохемилюминесценция природной воды	Видимый и ультрафиолетовый свет	В.Е. Синельников, 1968а
Электрохемилюминесценция	Постоянный электроток	Л.П. Ермолович, и др., 1968.
Сонолюминесценция	Ультразвук	Parker A., Taylor D., 1956. В.П. Казначеев и др., 1967
Радиолюминесценция	Изучение растворенных в воде веществ под влиянием радона	В.Е. Синельников, 1965, 1968а
Фосфоресценция в жидком азоте сложных органических веществ, выделенных из природной воды	Фильтрованный ультрафиолетовый свет	

Ж) Цит. по Е. В. Синельникову [162].

Информация о превращении веществ и энергии в водоеме, которая может быть получена с помощью люминесцентного метода, специфична, так как этот метод основан на анализе доли свободной энергии, не

используемой взаимодействующими молекулами. Интересно, что интенсивность спонтанной хемилюминесценции и излучение света флуоресценции молекулами, находящимися в связанном состоянии в макромолекулах или в смесобстрате, как правило, ниже, чем у этих же веществ, выделенных в растворе в чистом виде. Например, хемилюминесценция липидов в тканях гораздо ниже, чем в экстрактах из них [66]. Наш личный опыт показал, что иногда люминесцентные свойства отдельно взятых веществ могут значительно отличаться от люминесцентных характеристик этих же веществ в природных водах.

Л.В. Левин [104] показал, что процессы межмолекулярного взаимодействия приводят к существенным изменениям физических и химических свойств веществ. Очень часто эти изменения столь характерны, что позволяют получать весьма подробную информацию о структуре, реактивной способности и других свойствах взаимодействующих молекул. Одно из распространенных проявлений межмолекулярных взаимодействий — ассоциация молекул разных жидкостей, а также молекул растворенного вещества. В последнем случае часто наблюдаются не только объединение этих молекул между собой, но и присоединение к ним молекул окружающей среды-растворителя. Значительную склонность к образованию ассоциатов проявляет вода, а кроме того, спирты, карбоновые кислоты, многие красители. Преобразование энергии в ассоциатах приводит к уменьшению выхода свечения, к появлению новых полос излучения, отсутствовавших ранее у молекул в мономолекулярном состоянии.

Диссоциация и ионизация молекул растворенного вещества также изменяет их люминесцентные свойства. Молекулы воды, содержащие две активные гидроксильные группы — OH, могут служить промежуточными мостиками между взаимодействующими молекулами, способствуя их ассоциации. Таким образом, установлена роль растворителя в образовании ассоциатов.

На ряд флуоресцирующих веществ вода оказывает тушающее воздействие. Таким образом, поглощение и излучение света веществами в водной среде связано с рядом специфических явлений, изучение которых позволяет понять условия регулирования и протекания процессов в природной воде. Различные виды излучения в водоеме объединены нами в люминесцирующую систему природных вод. В данном случае имеется в виду совокупность реакций электронного возбуждения, при которых превращения вещества и энергии сопровождаются излучением в ультрафиолетовой, видимой и инфракрасной областях спектра. Их отличие от безызлучательных реакций, например, ионных и большей частью ферментативных, состоит в том, что они связаны с излучением света, возбуждаются и регулируются физико-химическими факторами среды: солнечным светом, ионизирующим излучением, присутствием индикаторов. По сравнению с ионными и ферментативными реакциями, они

протекают с участием больших количеств поглощенной энергии. К ним относятся фотохимические, свободнорадикальные реакции, взаимодействие веществ с синглетным кислородом. От безызлучательных реакций они отличаются также и тем, что небольшие воздействия на их ход могут привести к большим последствиям.

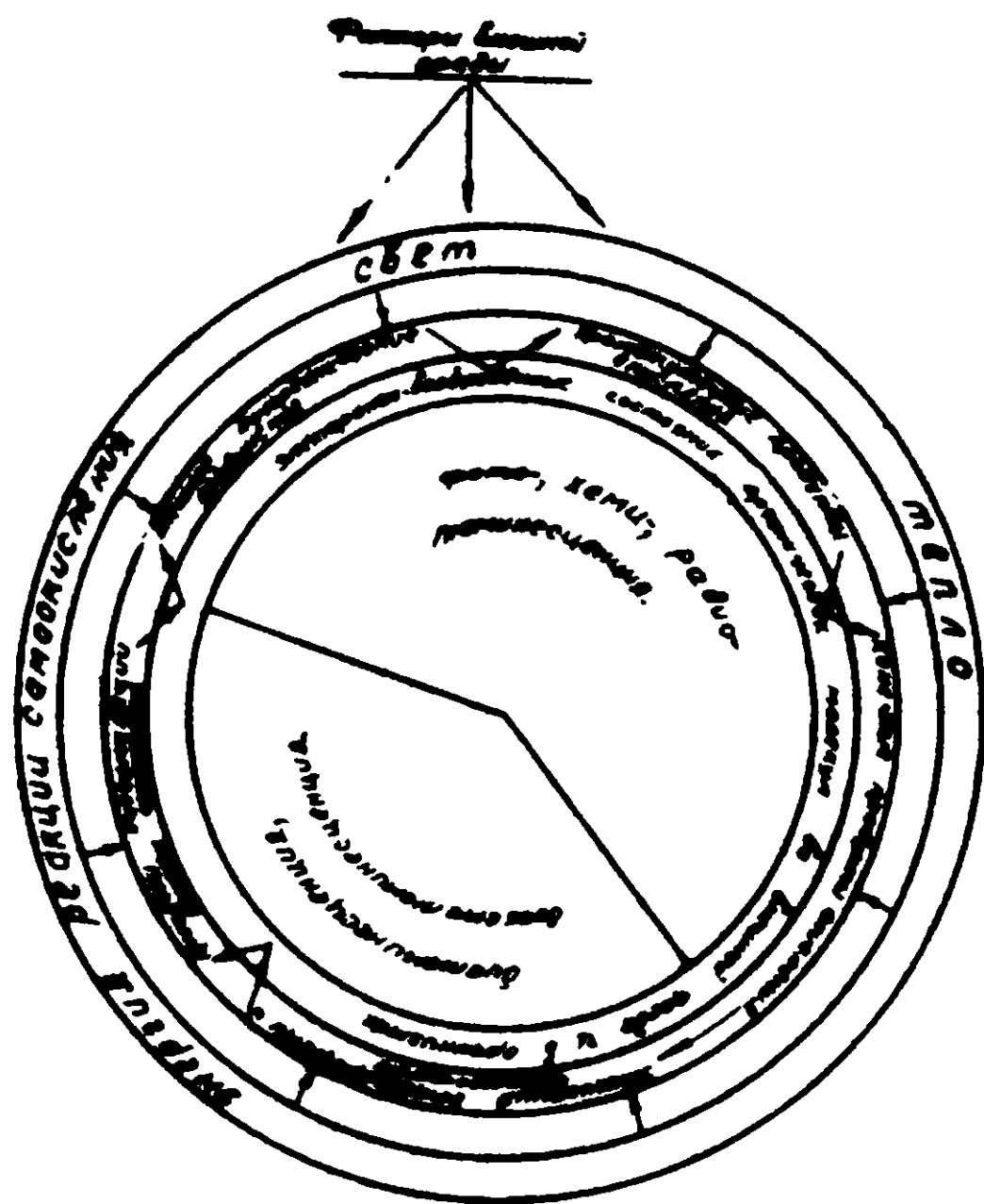


Рис. 1. Роль люминесцирующей системы в биотическом круговороте веществ в водоёме.

Благодаря способности люминесцирующих молекул накапливать, трансформировать и передавать поглощенную энергию в реакциях с их участием очень часто можно обнаружить эффект последействия, т.е. реакция продолжается некоторое время после прекращения возбуждающего фактора. Кроме того, люминесцирующие вещества способны диссипировать поглощенную энергию, защищая молекулы от разрушения.

На рис. I показано место реакции электронного возбуждения в биотическом круговороте в водоёме. Известно несколько видов трофических связей между организмами (гетеротрофами): а) связь между хищником и жертвой; б) использование остатков организмов, детрита; в) выделение и утилизация содержащихся в воде органических продуктов обмена живых организмов.

На примере морских сообществ выяснено, что обмен веществ между организмами, протекающий в основном на низких трофических уров-

нях, играет значительную роль в метаболических связях водоёма [198]. В этом случае факторы среды могут оказаться наиболее существенными в биотическом круговороте и принимать прямое участие в его направленности и регулировании. Электронно-возбуждённое состояние молекулы – кратковременное состояние её наиболее высокой активности, во время которого она вступает в реакции взаимодействия, невозможные для молекул, находящихся в основном энергетическом состоянии. В электронно-возбуждённом состоянии совершается переход вещества под действием физико-химических факторов в новое качество, за которым в конечном итоге следует определённый биологический эффект: прирост биомассы, увеличение или уменьшение численности отдельных видов организмов и т.д.

Изучение превращения веществ, сопровождающегося испусканием света, может помочь в оценке и прогнозировании отдельных воздействий на изменение качества воды в водоёме, на ход процессов самоочищения.

Строение люминесцирующих молекул

В этом разделе обсуждаются особенности строения молекул органических веществ, обладающих фотолюминесценцией. Зная молекулярное строение вещества, во многих случаях можно предсказать, будет ли данное соединение светиться и в какой области спектра: в ультрафиолетовой или в видимой.

Типичным люминофором служит бензол (рис.2). Он обладает жёсткой структурой и наличием цепочек сопряжённых связей, необходимых для проявления флуоресценции. В табл.3 показано, как введение в молекулу бензола заместителей может изменить его люминесцентные свойства.

Паркер [287] обращает внимание на следующую особенность замещённых ароматических и гетероциклических соединений: заместители в орто-, пара-положении усиливают флуоресценцию соединения, а в метоположении препятствуют возникновению свечения. Из этого

правила флуоресценции имеются исключения: замещённые ароматические соединения с CN -группой в метоположении часто флуоресцируют. В табл.4 суммированы некоторые особенности структур, присущих флуоресцирующим молекулам.

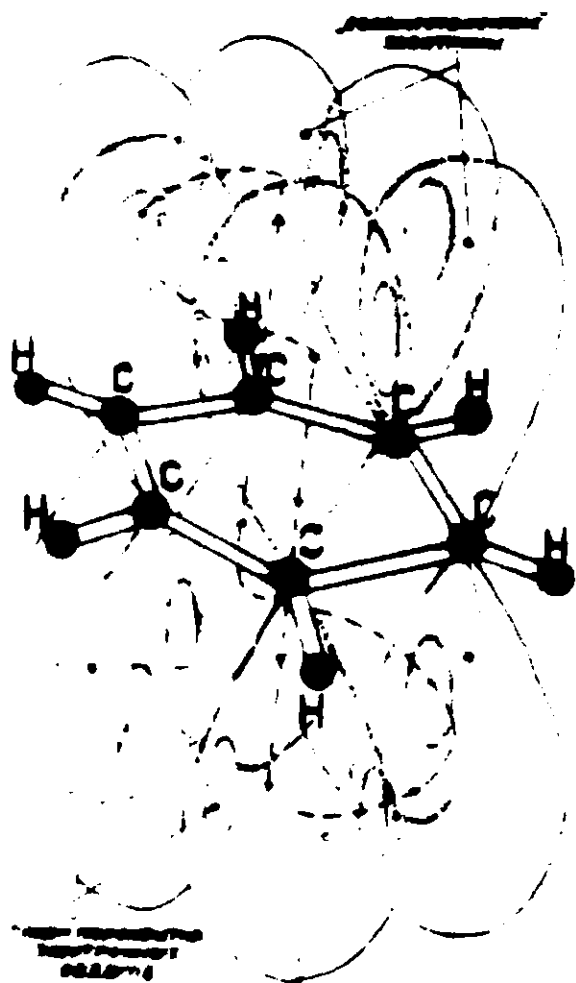


Рис.2. Делованье электронов в молекуле бензола.

Таблица 3

Флуоресценция некоторых двухзамещенных соединений
бензола [294]

Соединение	Заместители		$E_{\text{макс.}}$	Воз- буж- дение (нм)	Флю- орес- ценция (нм)	Относи- тельная интенсив- ность $C_6H_6 - 1,0$
	H	H'				
Анилин	NH_2	H	1,430	280	350	46
Бензолсульфона- мид	H	SO_2NH_2	740	-	нет	0
Сульфаниламид	NH_2	SO_2NH_2	16,600	260	350	220
Хлорбензол	H	Cl	190	265	294	0,02
p-хлоранилин	NH_2	Cl	1500	290	360	32
Нитробензол	H	NO_2	7800	-	нет	0
p-нитроанилин	NH_2	NO_2	13,500	-	нет	0

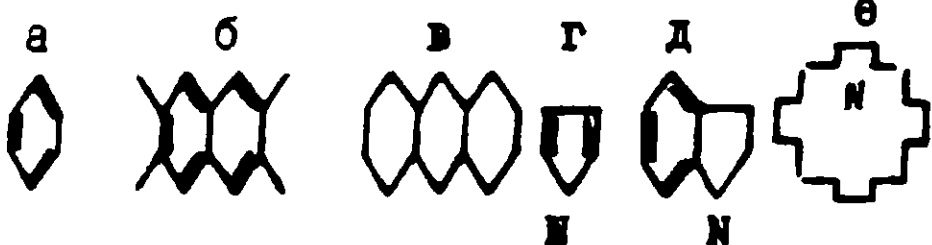

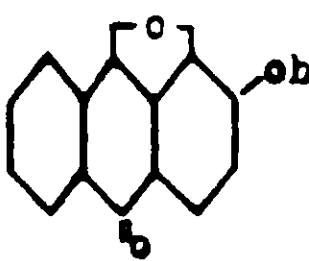
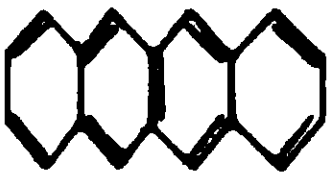
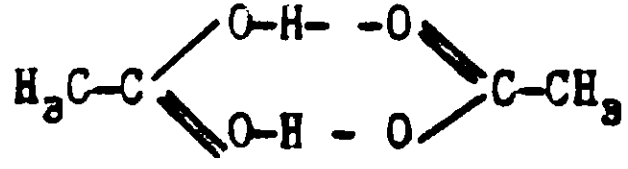
Примеры строения молекул некоторых флуоресцирующих веществ, обнаруженных в природных водах

Люминесцентные свойства соединений, обуславливающих флуоресценцию незагрязненных вод, изучены недостаточно. Более подробные сведения получены о строении гумусовых веществ и фотосинтетических пигментов.

Г у м у с о в ы е в е щ е с т в а

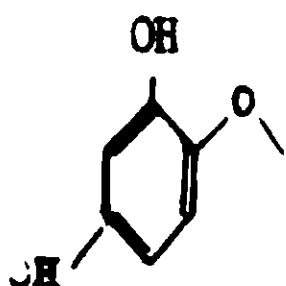
Они отличаются устойчивостью к воздействиям факторов внешней среды, биологически активны, в их молекуле содержится большое число различных функциональных групп (карбоксильные, карбонильные, фенольные гидроксилы и др.), что позволяет им вступать в разнообразные по типу химические связи. Они склонны к образованию комплексов и ассоциатов. Высокополимерные гумусовые вещества представляют собой коллоиды, а соединения более простого строения образуют истинные растворы. Гумусовые вещества разделяются на гуминовые и фульвокислоты, а также на некоторые другие фракции, состоящие из соединений, которые в общем сходны между собой [234, 235, 236]. Возможен переход гуминовых кислот в фульвокислоты и обратно вследствие изменения их коллоиднохимического соединения. Строение мономеров и полиме-

Некоторые структурные особенности люминесцирующих молекул

Элементы структур	Химические символы
1. Функциональные группы: а) карбоксильная; б) этиленовая; в) нитрильная; г) нитратная; д) непредельная двойная связь	а) $-\text{COOH}$; б) $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$; в) $-\text{N}\equiv\text{C}-$; г) $-\text{NO}_2$; д) $-\text{C}=\text{C}-$
2. Строение ядра: а) бензол; б) нафталин; в) антрацен; г) пиррол; д) бензопиррол; е) фта-лодианин	
3. Кинематическая структура; семикинемы	
4. Цепочки сопряженных связей	$-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}=\text{CH}-$
5. Полиеновые цепочки.	$\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-(\text{CH}=\text{CH})-\text{CH}=\text{CH}_2$
6. Металлоорганические комплексы: ализарин	 $\text{Me} - \text{Al}, \text{Fe}, \text{Cu}$
7. Образование водородной связи	$> \text{N} - \text{H} \dots \text{O} \dots \text{H} - \text{N} <$
8. Ассоциаты (длинные мицеллы-нити ассоциатов нафтацена)	
9. Димеры: димеризация уксусной кислоты при помощи водородной связи	
10. Наличие неподеленной пары электронов атомов азота ($\text{N}:$), кислорода ($\ddot{\text{O}}:$), серы ($\text{S}:$)	

ров, составляющих гумусовые вещества, обсуждается М.М. Кононовой и И.В. Александровой [94], С.М. Манской, Т.В. Дроздовой [114].

Тилле и Кетнер описывают строение мономеров, состоящих из ядра, связывающего элемента $(-O-)$ и функциональной группы $(-OH)$. Ядро представляет собой кольцо с шестью атомами кислорода:

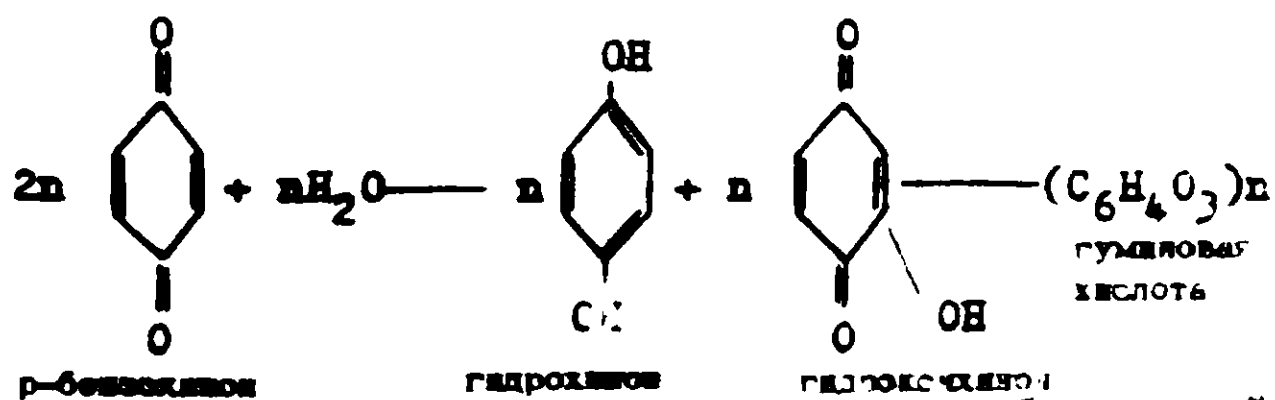


Ядром может быть также бензол, нафталин, антрацен, пиррол, тиофен, пиридин, индол и их производные. Ядра гумусовых веществ имеют жёсткую структуру, способствующую доминесценции. Связывающим мостиком может быть $-O-$; $-N-$; $-CH_2-$ или $-S-$.

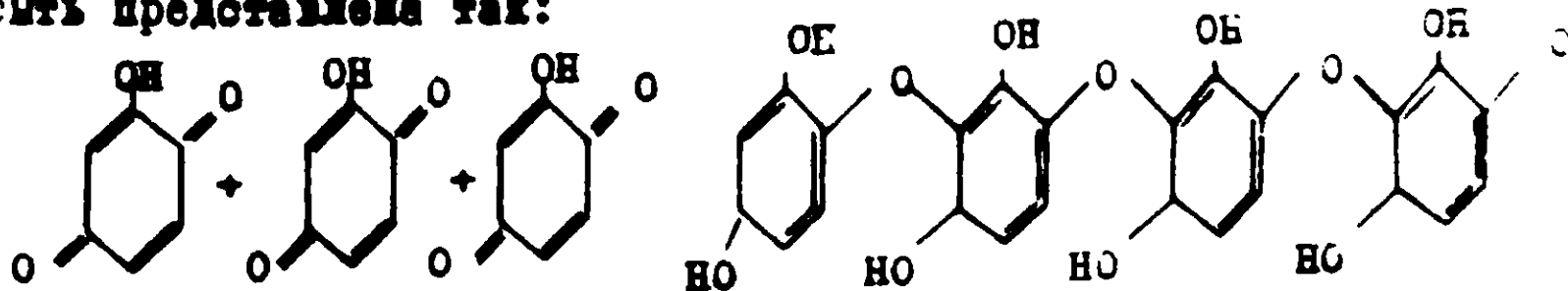
Гумусовые вещества флуоресцируют и фосфоресцируют желтым, оранжевым, коричневым цветами. Введение в их молекулу тяжелого атома металла увеличивает число триплетных метастабильных уровней, увеличивая длительность фосфоресценции.

По убыванию степени полимеризации фракции гумусовых веществ располагаются следующим образом: гуминовая кислота > гематомелановая кислота > фульвокислота. Фульвокислоты, имея структурные единицы, сходные по природе с таковыми в гуминовых кислотах, характеризуются более слабо выраженной ядерной частью (ароматических углеводородных сеток) и преобладанием боковых цепей.

Данч [268] представил образование гуминовой кислоты из р-оен-зохинона в отсутствии окисляющего агента следующим образом:



Полимеризация гидроксикинонов как бензойной системы может быть представлена так:



Если молекулярный вес этих соединений около 1200, то гидроксихиноны образуют коллоидные мицеллы гуминовой кислоты. Гумусовые вещества, подобно белковым, имеют вторичную и третичную структуру, образуя агрегаты. В некоторых условиях эти частицы склонны к коацердации.

Одним из источников водного гумуса служит планктон (Скопичев, 1950 *). В воде гумусовые вещества агрегируют, образуя своеобразные частицы, в происхождении которых участвуют бактерии и пузырьки воздуха [7, 225]. Эти образования ярко люминесцируют.

Гумусовые вещества в водном растворе люминесцируют жёлто-зеленым, желтым, коричневым цветами. Данных, позволяющих на основании флуоресценции судить о структуре гумусовых веществ, явно недостаточно. Однако уже по цвету и спектру свечения представляется возможность в самых грубых чертах судить о типе соединения. Так, имея раствор, обнаруживающий флуоресценцию жёлтого или красного цвета, можно с уверенностью сказать, что в нём содержатся сложные молекулы с большим числом сопряженных двойных связей, с несколькими (более трёх) циклическими ядрами.

Х л о р о ф и л л и п о р ф и р и н ы . Огромное внимание к изучению хлорофилла связано с его исключительной ролью в фотосинтезе. Хлорофилл — это комплексная соль порфина. У порфина четыре пиррольных кольца; соединенные атомами углерода, они образуют одно большое кольцо.

Фотохимические реакции хлорофилла в растворах проходят через долгоживущее триплетное состояние. Механизм превращения энергии света, поглощенной хлорофиллом, в химическую энергию окислительно-восстановительных реакций окончательно неизвестен. Большая роль при реакции фотосинтеза принадлежит взаимному расположению молекул пигмента, белка и липидов внутри грана хлоропласта. Распределение и миграцию энергии в хлоропласте изучают с помощью оптических методов, в частности, люминесценции.

Люминесцируют хлорофиллы и порфирины крайне редким для природных соединений красным цветом. Спектр большинства сложных природных соединений — размытый, широкополосный, с отсутствием характерных максимумов. Спектры же порфиринов и хлорофиллов состоят из нескольких полос, которые позволяют идентифицировать отдельные соединения. Спектры поглощения и испускания хлорофилла состоят из двух полос. Область свечения хлорофилла в метаноле, этаноле, хлороформе, бензоле лежит между 580 и 670 нм, а поглощение — в области 432 и 665 нм.

Спектры флуоресценции хлорофилла и ближайшего продукта его превращения (феофитина) различны, и это обстоятельство может быть использовано для определения каждого из них в смеси [8, 148].

Люминесцентные свойства хлорофиллов в растворе близки к закономерностям люминесценции синтетического пигмента фталоцианина магния. На примере порфирина хорошо видно, что флуоресценция может быть увеличена, уменьшена или даже полностью уничтожена, если в соединении происходят определенные замещения. У порфиринов при введении в их молекулу меди, никеля, железа свечение пропадает.

Хлорофилл и порфирины в виде коллоидных суспензий в воде почти не светятся, но их люминесценция становится очень сильной при адсорбции на гелях, твёрдых адсорбентах и в полярных органических растворителях: спирте, хлороформе, эфире. В растворе хлорофилла свечение значительно сильнее, чем внутри грана хлоропласта. Из люминесцирующих соединений, поступающих в водоёмы со стоками из воды рек и водохранилищ, могут быть выделены и определены по спектру флуоресценции светящиеся в ультрафиолетовой области бензол, нафталин и некоторые их производные, а в видимой области спектра — отдельные фракции Б.фтепродуктов, полициклические конденсированные углеводороды, оптические отбеливатели, некоторые красители [30.50,113].

К р а с и т е л и . В сравнительно небольших количествах пока выпускаются красители ксантенового ряда; они редко служат причиной яркой люминесценции загрязнённых вод. Люминесценция загрязнённых вод в основном обусловлена красителями на основе антрацена ($C_{14}H_{10}$) и особенно антрахинона ($C_{14}H_8O_2$). Светопрочные и яркие антрахиноновые кубовые красители в воде нерастворимы, но при действии восстановителей в щелочной среде образуют водорастворимую форму. Люминесценция большей части красителей крупнотоннажного производства проявляется в адсорбированном состоянии и особенно расширяется число соединений, способных светиться при температуре жидкого азота ($77^{\circ}K$). Одна из возможных причин увеличения яркости свечения загрязнённых вод связана с применением оптических отбеливателей. Эта группа соединений получила широкое распространение в быту и промышленности. Отбеливающие вещества применяют в промышленности синтеза искусственного волокна, при производстве моющих средств и пластмасс, в текстильной и бумажной промышленности. О токсических свойствах флуоресцирующих красителей говорится в работах Володченко и Малкеса [33], о фотосенсибилизирующих — в статье А.А. Красновского, Ф.Ф. Литвина [95].

Оптические отбеливатели, бесцветные или слабоокрашенные органические соединения поглощают ультрафиолетовые лучи в области 300–400 нм и преобразуют их в синий или фиолетовый свет с длиной волны 400–500 нм. Основные максимумы поглощения оптических отбеливателей находятся в области 335–380 нм, а максимумы флуоресценции сдвинуты в длинноволновую область на 70–130 нм.

Материалы, обработанные незначительным количеством отбеливающих веществ, приобретают высокую степень белизны и начинают интенсивно флуоресцировать. Оптические отбеливатели синтезируют на основе нескольких соединений: производных ароматического углеводорода стильбена ($C_{14}H_{12}$), кумарина ($C_{9}H_6O_2$), имидазола и ссазола. Азолы — это соединения с пятичленными гетероциклами и с двумя гетероатомами, у которых оба или хотя бы один гетероатом — азот.

Оксазол обладает яркой флуоресценцией. Производные бензотидазола как оптические отбеливатели были предложены в 1942 г.

Спектр люминесценции оптических отбеливателей широкополосный, размытый, и идентифицировать эти соединения на основе спектров люминесценции при комнатной температуре нельзя.

Ароматические углеводороды. Бензол — первый представитель ароматических углеводородов, он флуоресцирует в ультрафиолетовой области: максимум его поглощения при 200° — 254 нм, флуоресценции — 290 нм, фосфоресценции — 340 нм. Половина длительность фосфоресценции — 7 сек. Яркой люминесценцией характеризуются ароматические углеводороды с двумя и большим числом ядер. Их содержание в некоторых видах нефти достигает 39%. Важнейшие ароматические углеводороды получают в промышленности из каменноугольной смолы. Их присутствие в стоках коксохимических заводов можно обнаружить по характерной люминесценции хлороформного или эфирного экстракта в ультрафиолетовой области спектра. Углеводороды хорошо извлекаются из воды органическими растворителями, не смешивающимися с водой, например, гексаном, петролейным эфиром и хлороформом.

Длина волны полос поглощения и люминесценции углеводородов, у которых несколько бензольных колец соединяются в цепь, увеличивается с возрастанием числа колец и сопряженных связей.

В ряду простейших ароматических углеводородов по мере накопления бензольных ядер наблюдается повышение интенсивности люминесценции. Источники ароматических углеводородов в воде — сточные воды химической, нефтяной, коксохимической промышленности. Во всех видах нефти содержится бензол и его метилзамещенные гомологи, толуол и ксилолы [51, 190]. Эти соединения поглощают свет в области 255 нм и флуоресцируют в области 280–290 нм. Из числа конденсированных бициклических ароматических соединений в составе нефти и их легких фракций (бензин, керосин, дизель) присутствуют нафталин и его метилзамещенные гомологи: метилнафталины, ди-, три-, тетраметилнафталины [112, 113]. В масляных фракциях при температуре кипения $300\text{--}550^{\circ}$ присутствуют ароматические соединения с 3–5 циклами: пирен, перилен, антрацен. Спектры флуоресценции бензола, антрацена и их CH_2 -замещенных гомологов имеют максимум излучения в области 275–300 нм. Флуоресценция раствора дифенила располагается в области 300–360 нм с максимумом 303, 314–326 нм [113]. Спектр дифенилметана $\text{C}_6\text{H}_5\text{—CH}_2\text{—C}_6\text{H}_5$ имеет один максимум — 284 нм, остальные максимумы (273, 278, 290, 302 нм) выражены слабо. Сравнение спектров дифенила и дифенилметана показывает, что введение между бензольными кольцами групп CH_2 вызывает смещение спектра в ультрафиолетовую область. Для избирательного возбуждения флуоресценции отдельных соединений выбирают область максимума

поглощения исследуемых веществ. Ультрафиолетовые спектры поглощения ароматических углеводородов представлены в атласе М.М. Кузнецова, Н.А. Шиманко, М.В. Шикиной [103].

Флуоресценция экстрактов углеводородов, выделенных из воды ароматических соединений, обусловлена в большей части случаев сложной смесью веществ. Спектры таких смесей бесструктурны, и для рафинировки веществ, с которыми связано свечение в данной области, необходимо их предварительно разделить, например, с помощью хроматографии на колонках с силикагелем [85].

Г л а в а II

ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРОВ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

В спектральном люминесцентном анализе вод можно выделить три следующие основные направления.

I. Исследование спектров люминесценции вод и выделенных из них веществ для качественного и количественного определения конкретных соединений

Чувствительность определений, основанных на измерении концентрации веществ по спектрам флуоресценции в ряде случаев близка к чувствительности определений отдельных элементов с использованием спектров испускания [184]. В зависимости от яркости флуоресценции изучаемого вещества и условий регистрации спектров минимальная концентрация определяемого вещества колеблется от десятых до десятитысячных долей миллиграмма в определении. Относительная точность находится в пределах 2-10%. Процесс фотоэлектрической регистрации спектра занимает 3-10 минут. Длительность экспозиции при съёмке спектра на фотографическую пластинку может достигать 4-6 часов.

В спектральном люминесцентном анализе соединений из природных и загрязнённых вод неизбежно приходится учитывать влияние среды [241, 242, 243]. Наиболее часто оно проявляется в явлении тушения или в перекрывании спектров люминесценции отдельных соединений, т.е. необходимо исследовать возможность определения соединений в их смеси. С большей вероятностью непосредственно в воде могут быть определены соединения, флуоресцирующие или в ультрафиолетовой (250-400 нм) или в красной - инфракрасной (600 - 1000 нм) областях, так как всю видимую область спектра от 400 до 600 нм занимают гумусовые вещества, неизменно присутствующие в водах рек, озёр и водохранилищ. Их широкополосный диффузный максимум располагается в области 450-500 нм. Смесь флуоресцирующих веществ бытовых сточных вод охватывает фиолетовую, синюю и голу-

области спектра с широкополосным максимумом от 400 до 500 нм. Эти обстоятельства усложняют использование люминесцентного анализа и требуют предварительного разделения выделенных веществ.

2. Задача исследования суммарного спектра вод для определения характеристики водной среды

В этом случае спектральный люминесцентный анализ используется для выяснения условий и форм, в которых флуоресцирующие вещества находятся в природных условиях. Например, определение биомассы по флуоресценции хлорофилла в клетках водорослей, плавающих в воде (Logezzen, 1966) *. Изменения характера спектра люминесценции воды могут быть применены для автоматического контроля за изменившимися условиями водной среды вследствие попадания в неё загрязнений [230, 242]. Суммарные спектры вод, полученные в неокрашенных условиях природной среды, могут дать сведения о формировании и трансформации водных масс [108, 110, 155].

Спектры люминесценции необработанной воды в ультрафиолетовой и видимой областях могут служить показателем однородности той части ее состава, которая характеризует окрашенные и бесцветные высокомолекулярные органические соединения. Для характеристики соотношения между окрашенной и бесцветной частью органического вещества вод необходимо получить в одной и той же пробе воды спектры поглощения, возбуждения и излучения при разных длинах волны возбуждающего света. Если максимумы в спектре возбуждения и поглощения совпадают, то это свидетельствует о том, что флуоресценция исследуемых проб вод связана с тем веществом, для которого ранее был установлен максимум поглощения. Поскольку максимумы возбуждения и флуоресценции для гумусовых веществ и неокрашенных соединений различны, в каждом образце вод можно зарегистрировать соотношение между ними и, таким образом, судить о трансформации водной массы.

3. Задача исследования спектров люминесценции в связи с изучением межмолекулярных взаимодействий

Флуоресцирующие молекулы выступают в качестве центров преобразования различных видов энергии в световую. Спектральный люминесцентный метод широко используют в работах по энергетике сложных молекул [125, 140, 185, 188, 201].

В гидрохимии и гидробиологии это направление еще не получило развития. Вместе с тем люминесцентный спектральный метод представляется весьма перспективным в исследованиях механизма фотохимических реакций в природных водах, межмолекулярных взаимодействий растворенных органических веществ с другими растворенными молекулами. Для проведения электронно-молекулярных спектроскопических ис-

следовании необходимо иметь достаточное количество (100-500 мг) природных соединений в очищенном виде. Предварительно должен быть исследован их элементарный состав и строение, например, методом инфракрасной спектроскопии. Люминесценция природных вод и веществ в весьма небольших количествах, выделяемых из воды, как правило, имеет незначительную, по сравнению с синтетическими люминофорами, интенсивность. Поэтому необходимы светосильные приборы, высокочувствительные фотоматериалы и регистрирующие устройства.

Оборудование спектральной люминесцентной лаборатории для работ в области гидрохимии и гидробиологии должно включать следующий комплекс приборов и приспособлений: а) спектральные приборы с приспособлениями для регистрации спектров возбуждения, флуоресценции и фосфоресценции; б) источники ультрафиолетового излучения; в) набор светофильтров; г) конденсоры и зеркала, фокусирующие свет; д) кюветы; е) кр. остаты; ж) приёмники излучения; з) электронные блоки питания приёмников излучения, усиления и регистрации фототока.

Приборы для спектрального люминесцентного анализа

Для спектрального люминесцентного анализа вод и выделенных из них соединений могут быть использованы спектрографы ИСП-25, ИСП-51, ИСП-73, универсальный монохроматор УМ-2 и спектрофотометры СФ-4А, СФ-10. Для люминесцентных исследований предназначены специальные приборы: спектрограф ИСП-53 с фотоэлектрической приставкой ФЭП-1, светосильный спектрометр ИСФ-1 ЦКБ АМН СССР (Москва). Новые спектральные приборы, выпускаемые Ленинградским оптико-механическим объединением (одинарный монохроматор МДР-3, двойной монохроматор МДР-1 со сменными дифракционными решетками) описаны Н.Г. Ярославским, И.И. Николаевой [214]. Из зарубежных приборов в наших лабораториях часто используют спектрофотометры фирм Аминко-Боумен (Англия) и Хитачи (Япония). Краткая характеристика некоторых отечественных спектральных приборов и возможности их использования для спектрального люминесцентного анализа дана в таблице [5].

Как правило, приборы, предназначенные для спектрального эмиссионного анализа элементов или регистрации спектров поглощения (измерения оптической плотности), нуждаются в соответствии с поставленной задачей люминесцентных исследований в дооборудовании вспомогательными устройствами, в видоизменении и конструировании отдельных узлов. Некоторые рекомендации в этом отношении даны в табл. 5.

В настоящее время фотоэлектрическая регистрация спектров, как более простая и экономичная, повсеместно вытесняет фотографический метод. Более охотно пользуются теми спектрофотометрами, в ко-

Характеристики системных приборов отечественного производства, используемых в люминесцентном анализе

Модель прибора	Тип прибора	Характеристики системных приборов отечественного производства, используемых в люминесцентном анализе	Основное назначение	Применение в люминесцентном анализе	Недостатки прибора при его применении в люминесцентном анализе	Усовершенствования
УД-2	Цилиндрический монохроматор	Дифракционная решетка: относительная дисперсия 1:100; рабочий диапазон - 180-1000 нм	Получение монохроматического излучения в видимой области	Регистрация спектров возбуждения и флуоресценции в видимой области	Отсутствует малочисленная разбурная спектра; малозначительная протекция излучения	К барбару поворота протекать излучение
Монитор ДМ-10	Дифракционный монохроматор, построенный по горизонтальной схеме с зеркальной оптикой	Рабочий диапазон 200-800 нм, относительная дисперсия 1:100; рабочий диапазон 600 нм/мм, относительная дисперсия 1:100	Получение монохроматического излучения в видимой области ультрафиолетовой области	Регистрация спектров возбуждения и флуоресценции в ультрафиолетовой области	Для уменьшения рассеивания света место регистрации отапливается дифракционной решеткой	Применение люминесцентного анализатора
ДМ-4	Дифракционный монохроматор, построенный по горизонтальной схеме с зеркальной оптикой	Рабочий диапазон 210-2500 нм; дисперсия призма: с излучением призма при $\lambda = 200$ нм - 10 нм, со стек - 16 нм; относительная дисперсия при $\lambda = 365$ нм - 16 нм; относительная дисперсия при $\lambda = 365$ нм - 16 нм	Получение монохроматического излучения высокой чистоты, с излучением спектров излучения и спектров поглощения	Регистрация спектров возбуждения и флуоресценции в видимой области	Отсутствует малочисленная разбурная спектра	Результат с излучением спектров
СД-2	Спектрофотометр дифракционный, регистрирующий излучение	Рабочий диапазон 200-2500 нм; дисперсия призма: с излучением призма при $\lambda = 200$ нм - 10 нм, со стек - 16 нм; относительная дисперсия при $\lambda = 365$ нм - 16 нм; относительная дисперсия при $\lambda = 365$ нм - 16 нм	Изменение пропускания или оптической плотности веществ в твердых веществах	Регистрация спектров возбуждения и флуоресценции в ультрафиолетовой области	После переключения может быть использован в люминесцентном анализе	То же
СД-10	Спектрофотометр дифракционный	Рабочий диапазон 200-2500 нм; дисперсия призма: с излучением призма при $\lambda = 200$ нм - 10 нм, со стек - 16 нм; относительная дисперсия при $\lambda = 365$ нм - 16 нм; относительная дисперсия при $\lambda = 365$ нм - 16 нм	Изменение коэффициента пропускания, оптической плотности, абсолютных и относительных коэффициентов диффузного отражения	Регистрация спектров возбуждения и флуоресценции в видимой области	После переключения может быть использован в люминесцентном анализе	То же
СД-8	Спектрофотометр дифракционный	Рабочий диапазон 200-2500 нм; дисперсия призма: с излучением призма при $\lambda = 200$ нм - 10 нм, со стек - 16 нм; относительная дисперсия при $\lambda = 365$ нм - 16 нм; относительная дисперсия при $\lambda = 365$ нм - 16 нм	Изменение коэффициента пропускания, оптической плотности, абсолютных и относительных коэффициентов диффузного отражения	Регистрация спектров возбуждения и флуоресценции в видимой области	После переключения может быть использован в люминесцентном анализе	То же
СД-1	Спектрофотометр дифракционный	Рабочий диапазон 200-2500 нм; дисперсия призма: с излучением призма при $\lambda = 200$ нм - 10 нм, со стек - 16 нм; относительная дисперсия при $\lambda = 365$ нм - 16 нм; относительная дисперсия при $\lambda = 365$ нм - 16 нм	Изменение коэффициента пропускания, оптической плотности, абсолютных и относительных коэффициентов диффузного отражения	Регистрация спектров возбуждения и флуоресценции в видимой области	После переключения может быть использован в люминесцентном анализе	То же
СД-51 (с ДМ-1)	Регистрирующий спектрометр	Рабочий диапазон 360-1000 нм с излучением $\lambda = 120$ нм; дисперсия призма: с излучением призма при $\lambda = 200$ нм - 10 нм, со стек - 16 нм; относительная дисперсия при $\lambda = 365$ нм - 16 нм; относительная дисперсия при $\lambda = 365$ нм - 16 нм	Спектры комбинационного рассеяния, поглощения, флуоресценции	Атоматическая флуоресцентная регистрация спектров флуоресценции в видимой области	Маленькая скорость регистрации спектра	Скорость регистрации спектра

торых предусмотрена автоматическая развертка спектра и его запись на диаграммной ленте самописца. При выборе прибора для регистрации спектров люминесценции вод и выделенных из них веществ необходимо, чтобы оптическая система его имела большую светосилу и высокую дисперсию. Но между этими характеристиками существует обратная зависимость. Очень большая дисперсия уменьшает светосилу прибора. Значительно увеличивает дисперсию двойная монохроматизация. В то же время в двойном монохроматоре попадание рассеянного постороннего света на приёмное устройство меньше, чем в одинарном.

Дифракционные спектрографы имеют преимущества перед приборами со стеклянными призмами, так как они позволяют регистрировать спектры в ультрафиолетовой и видимой областях и дают одинаковую дисперсию во всём рабочем диапазоне. Вместе с тем некоторые образцы реплик дифракционных решеток дают значительное количество рассеянного света, что существенно сказывается при регистрации спектров слабого свечения. Целесообразно в монохроматорах возбуждения вместо реплик дифракционных решеток ставить дифракционные решетки, что приводит к значительному уменьшению рассеянного света.

Электрохимическая часть прибора, осуществляющая поворот призмы или дифракционных решеток, должна обеспечивать такие скорости движения (1–3 см/мин), чтобы запись всего спектра занимала не более 15–20 мин. Приёмник излучения прибора должен обладать высокой чувствительностью в ультрафиолетовой и видимой областях, а уровень собственных шумов приёмного и усилительного устройства должен быть максимально низким.

В большей мере этим требованиям отвечает светосильный спектрометр СДМ-1, дифракционные спектрофотометры ДФМ оптико-механического объединения в Ленинграде, АН СССР (г. Москва).

Выбор оптических условий для фотовольтрической регистрации спектра обсуждается в практикуме В.А. Владимирова и Ф.Ф. Литвина [31]. Описание отечественных приборов для спектрального анализа изложено в руководстве А.А. Бабушкина и соавторов [6], И.М. Нагибиной и В.К. Прокофьева [123]. В монографии К.И. Тарасова [180] обобщен новейший опыт создания спектральных приборов отечественного и частично зарубежного производства. Подробно описаны технические данные отдельных приборов.

Ниже приведены сведения главным образом практического характера, о спектрографах и спектрофотометрах, наиболее простых и удобных в работе, пригодных для исследований вод и выделенных из них соединений, а также о новых приборах, не вошедших в руководство.

Универсальный монохроматор УМ-2

Универсальный монохроматор УМ-2 состоит из спектрального прибора, набора кювет с держателями и фотоэлектрического устройства. Монохроматор УМ-2 выделяет узкие по длинам волн участки спектра в видимой и ближней инфракрасной области в диапазоне от 380 до 1000 нм. Фотоэлектрическое устройство состоит из фотоэлемента и гальванометра. Оно предназначается для измерения интенсивности отдельных спектральных линий, которые путём поворота призмы монохроматора поочередно фокусируются на фотокатоде приёмного устройства. Из-за незначительной яркости флуоресценции образцов, извлечённых из вод, их регистрация с помощью фотоэлектрического устройства, входящего в комплект монохроматора, невозможна. В качестве приёмного устройства можно рекомендовать использование сцинтилляционной приставки с фотоэлектронным умножителем ФЭУ-19 М. При этом осуществляется надёжное сочленение защитного кожуха приставки с выходной щелью монохроматора, которое должно сделать невозможным попадание постороннего света в приёмник излучения. Питание ФЭУ осуществляется напряжением 1500 в от высоковольтных стабилизаторов ВС-22 или ВСВ-2. Фототок усиливается с помощью электрометрического усилителя и регистрируется с помощью интегратора скорости счета или на самопишущем потенциометре ЭПП-09. Преимущество монохроматора в его большой светосиле, но степень разрешения отдельных линий у него ниже, чем у спектрографа. Фотоэлектрическое устройство, конденсоры и держатели кювет крепятся на рельсах. Ртутно-кварцевая лампа, служащая источником возбуждения флуоресценции исследуемого раствора, устанавливается под углом 45° к кювете с исследуемой водой на специальной подставке.

Перед началом анализа проверяют правильность градуировки монохроматора. Для этого снимают спектр раствора известных соединений, например, некоторых ароматических углеводородов. Вращая барабан длин волн, выводят поочередно отдельные спектральные линии в центральное положение, соответствующее максимальным показаниям фотоэлектрического устройства и отмечают положение линии на барабане длин волн, предварительно проградуированном с помощью ртутной лампы.

Монохроматор УМ-2 может быть использован для получения монохроматического света, для возбуждения флуоресценции, спектр которой регистрируется светосильным спектральным прибором, например, спектрографом ИСП-51 (ИСП-53).

Дифракционный спектрофотометр АМН СССР

Прибор предназначен для получения оптического спектра в ультрафиолетовой и видимой областях. Спектральный диапазон работы -

220–700 нм, дисперсия излучения осуществляется с помощью двух дифракционных решеток. Весь диапазон регистрируемых длин волн разбивается электрическим маркером на 20 равных промежутков, отмечаемых на диаграммной ленте. Они позволяют провести градуировку прибора по длинам волн. Плавный поворот дифракционных решеток осуществляется электродвигателем, имеющим две скорости вращения. Рукоятка переключения скоростей выведена на переднюю стенку прибора. Здесь же расположен рычажок направления вращения решеток.

Для работы на приборе необходимо сконструировать кюветное отделение и смонтировать приставку состоящую из трех блоков: приема, усиления и регистрации излучения.

С в е т о с и л ь н ы й с п е к т р о м е т р С Д И - I
Л е н и н г р а д с к о г о о п т и к о - м е х а н и ч е с к о г о о б ь е д и н е н и я. Прибор предназначен для возбуждения и регистрации спектров люминесценции в диапазоне 200–600 нм. Он также может быть использован для исследования кристаллов, жидкостей и порошков при комнатной или низкой (жидкий азот, гелий) температурах в обыкновенном или поляризованном свете.

Прибор представляет собой двойной монохроматор, построенный по горизонтальной асимметрической схеме с параболическими зеркалами. Сменные дифракционные решетки (1200, 600, 300, 100 стрих/мм) обеспечивают получение широкого диапазона при значительной величине дисперсии и разрешающей способности не менее 1000.

Источником возбуждения флуоресценции служит ртутная лампа ДРШ-500. Для энергетической калибровки прибора он снабжен эталонированным источником сплошного спектра – ленточной лампой.

В качестве приемника излучения использованы фотоэлектронные умножители ФЭУ-39 А (для ультрафиолетовой области) и ФЭУ-62 (для видимой области).

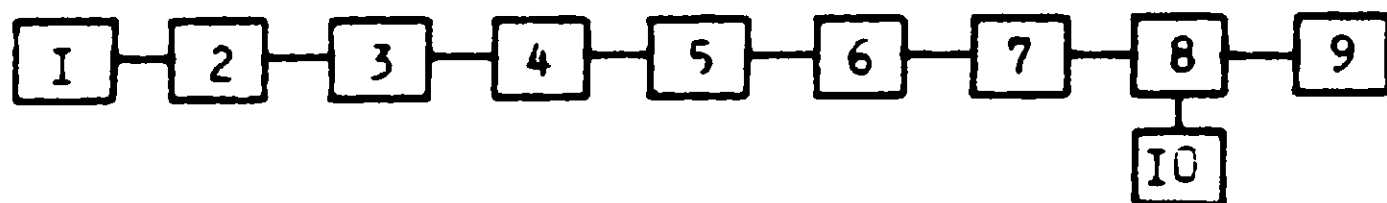
Развёртка спектра осуществляется синусным механизмом. Предусмотрены набор скоростей сканирования и быстрые скорости развёртки для выбора нужной области спектра. Скорости сканирования спектра при работе решетки – 1200 стрих/мм – 1,2; 6,6; 20; 60 μ /мин. Отсчёт длин волн регистрируемых линий производится механическими счётчиками. Скорость движения диаграммной ленты – 120–300 мм/час.

В осветительной системе предусмотрены комплект светофильтров для выделения монохроматических линий спектра ртути и сменные поляризаторы для исследования образцов в поляризованном свете. Для изучения спектров веществ при низких температурах образцы помещаются в оптический криостат.

Многоцелевой спектрофлуорометр АМН СССР

Многоцелевой спектрофлуорометр ИСФ-I АМН СССР предназначен для регистрации спектров флуоресценции, фосфоресценции и оп-

ределения концентраций. Прибор представляет собой двойной монохроматор. Разрешающая способность прибора - 15 \AA при работе со щелями $0,1-0,2 \text{ мм}$ и 20 нм по уровню $0,7$ при работе с максимально открытыми щелями. Основные части флуорометра представлены на блок-схеме:



I - осветитель, 2 - монохроматор возбуждения, 3 - модулятор, 4 - obturator, 5 - щеледержатель, 6 - монохроматор регистрации, 7 - фотоэлектронный умножитель, 8 - измерительный тракт, 9 - самописец, 10 - регистратор.

Осветитель представляет собой ксеноновую лампу ДКСШ-200. Она имеет непрерывный спектр излучения в ультрафиолетовой, видимой и ближней инфракрасной областях. Охлаждается эта лампа проточной водой. Возбуждение люминесценции осуществляется монохроматическим светом, получаемым с помощью дифракционного светосильного монохроматора АМН СССР. Этот же монохроматор использован для получения спектра люминесценции. Развертка спектров автоматическая. механическая часть прибора обеспечивает три постоянные скорости сканирования. Время прохождения спектра 300 нм за I, 4. 16 мин. Отсчет длин волн $\pm 5 \text{ \AA}$. При регистрации спектров весь диапазон разбивается на 20 меток маркера, с помощью которых осуществляется определение длин волн.

Модулятор выполнен в виде вращающегося диска с прорезями равной величины, нанесенными на одинаковых расстояниях друг от друга. Скорость вращения диска - 3900 об/мин. В этом блоке размещены фотосопротивления, которые управляют приемником света - фотоэлектронным умножителем. Фотосопротивления через прорези диска облучаются светом ламп ОП-3, формируя стробирующие импульсы, которые открывают и закрывают obturator.

Obturator - заслонка, совместно с модулятором осуществляет прерывистое облучение образца, необходимое для регистрации спектров флуоресценции.

Приемником излучения служит фотоэлектронный умножитель ФЭУ-38. Он регистрирует излучение в ближней ультрафиолетовой, видимой и ближней инфракрасной областях спектра. В состав измерительного тракта входят усилитель и блок питания ФЭУ с высоким напряжением. Запись спектра осуществляется с помощью самописца ЗП-09. Многоцелевые спектрофлуорометры позволяют осуществлять с помощью одного прибора регистрацию всех видов люминесценции. Это значительно рас-

пирляет возможности люминесцентного анализа, особенно количественного и качественного определения флуоресцирующих соединений, находящихся в смеси.

Многоцелевые спектрофлуорометры получают распространение в зарубежной практике приборостроения (Hitachi L.t.d., Tokyo, Japan, Marubeni - Iida Co). Фирма Хитачи выпускает многоцелевой спектрофотометр (Hitachi MPF-2 A Fluorescent spectrophotometer), с помощью которого представляется возможность регистрировать спектры флуоресценции (в ультрафиолетовой и видимой областях) и возбуждения. Фирма Хитачи поставляет к прибору дополнительные блоки для регистрации фосфоресценции и для производства массовых флуориметрических анализов (модель 203).

Для регистрации спектров люминесценции, возбуждаемых монохроматическим светом, необходимы большие концентрации флуоресцирующих веществ (0,1-0,005 мг в определении), так как интенсивность возбуждающего света в отдельной области монохроматического излучения составляет не более 5% от общей мощности источника возбуждения. Подобное обстоятельство ограничивает использование этого метода для образцов с очень малыми концентрациями исследуемых веществ или делает необходимым концентрирование их из больших объемов воды. Многоцелевые спектрофлуорометры могут применяться и для определения отдельных соединений, для работ в области кинетики окисления и превращения веществ.

Спектрограф ИСП-53 с фотоэлектрической приставкой ФЭП-1

Спектрограф ИСП-51 предназначен для фотоэлектрической и фотографической регистрации спектров в видимой области. Большая светосила прибора с малыми камерами (фокусные расстояния 120 и 270 мм) позволяет фотографировать спектры со слабым свечением. К спектрографу прилагается осветитель с эллиптическим зеркалом в кожухе, охлаждаемом водой. Источником возбуждения служит ртутно-кварцевая лампа ПРК-2. В комплект принадлежностей входят стеклянные монохроматические фильтры, имеющие максимумы пропускания 313; 365; 404,7; 546 и 577/579 нм; конденсоры, кюветы для образцов.

Фотоэлектрическая приставка представляет собой выходной коллиматор с усилительным и регистрирующим устройством. При вращении призмной системы на выходную щель коллиматора последовательно попадают различные участки спектра, проектируемые на фотокатод фотоумножителя ФЭУ-17. Питание фотоумножителя осуществляется от высоковольтного стабилизатора. Напряжение питания подбирается экспериментально плавной регулировкой блока питания. Синхронный электродвигатель для волн обеспечивает вращение призмной системы. Призмы спектрографа поворачиваются электродвигателем фотоэлектри-

ческой приставки, и отдельные линии спектра проецируются на фотокатод приемной фотоголовки, которая подключена к записывающему устройству. Так как интенсивность фототока пропорциональна яркости спектральной линии, то запись на диаграммной ленте самопишущего потенциометра может быть отградуирована в отношении концентраций анализируемого соединения. В этом случае строят график зависимости величины сигнала, записанного на потенциометре от концентрации соединения. Одновременно движется диаграммная лента записывающего устройства ЭПС-157. Перо самопишущего потенциометра записывает спектр в виде непрерывной кривой, на которую через равные промежутки наносятся отсечные линии. Скорость записи - 20-360 мм/час. Запись полного спектра требует довольно длительного времени, так как скорость движения призменной системы с помощью синхронного двигателя ФЭП-I и скорость записи самопишущего потенциометра очень малы. Поэтому рекомендуется в случае необходимости записи на приставку ставить дополнительный электромоторчик с редуктором и потенциометр ПСИ-02 заменить самописцем ЭПП-09.

Основные данные ИСП-5I с фотоэлектрической приставкой ФЭП-I:

Выходной коллиматор:

- а) рабочий диапазон 380-660 нмк;
- б) фокусное расстояние объектива 300 мм;
- в) относительное отверстие объектива 1 : 6 ;
- г) линейная дисперсия при длине волны 471,3 нмк. 32 $\frac{\text{нм}}{\text{мм}}$
- д) увеличение микроскопа 19x

Самопишущий потенциометр ПСИ-02:

- а) пределы измерения 0-10 мв;
- б) время пробега каретки 2,5 сек;
- в) скорость движения ленты 20-360 мм/час.

Усилитель постоянного тока:

- а) максимальный коэффициент усиления по току 10^6 ;
- б) напряжение питания 220 в.

З а п и с ы в а ю щ е е у с т р о й с т в о . Записывающее устройство ЭПС-157 представляет собой отдельный блок, в нижней части которого расположены элементы усилителя и блока питания, а в верхней части - малогабаритный самопишущий потенциометр ПСИ-02. На передней панели разместились выключатель низковольтного и высоковольтного стабилизатора; рукоятка потенциометра, регулирующего усиление; рукоятка и ось со шлицом потенциометров точной и грубой установки нуля; сигнальные лампочки и предохранители. Предусмотрена возможность снимков спектров на фотопластинки размером 6,5 x 9 см. При фотографировании спектров с малой яркостью приме-

няют фотоплёнку с чувствительностью 150-300 ед. ГОСТ 1

Техника регистрации флуоресценции спектров природной воды при анализе водных масс в водоёме и определении конкретных соединений, извлечённых из воды и сконцентрированных в небольшом объёме растворителя, имеет свои особенности, которые состоят в подготовке образцов для спектрального флуоресцентного анализа и в технике регистрации.

Некоторые практические рекомендации по подготовке к спектральным люминесцентным исследованиям

Работы по спектральному люминесцентному анализу желательно вести в затемнённом помещении, снабженном вентиляцией для удаления озона, который выделяется во время горения ртутно-кварцевой лампы.

Подготовку и проведение спектрального люминесцентного анализа производят в следующей последовательности: а) монтаж и встиривание спектрального прибора; б) выбор условий регистрации спектра (подбор источника и условий возбуждения, светофильтров, кювет и приёмника излучения); в) калибровка установки по чувствительности и спектру; г) запись спектра и его идентификация; составление калибровочной кривой для количественных определений.

Спектрограф монтируют на просторном и прочном столе размером 100 x 250 см. На нём же размещается фотоэлектрическая приставка и самописец. При необходимости для монтажа прибора можно пригласить специалистов оптико-механического объединения (Ленинград). При монтаже не следует касаться оптики руками, так как при этом на стекле остаётся жировая плёнка. Она приводит к ослаблению яркости проходящего через призму света. Появление загрязнения может быть обнаружено по светлым горизонтальным полосам на фотопластинке при фотографировании спектра. Чистку прибора производят, руководствуясь специальными приборами [106]. Решающее значение имеет при монтаже установка образца, ртутно-кварцевой горелки, конденсоров и кювет на оптической оси спектрографа. Для этого прибор снабжён специальным тельсом. Правильное встиривание позволяет максимально использовать мощность источника возбуждения и получить чёткое и резкое изображение спектра, равномерное распределение интенсивности по высоте полос.

В ы б о р и с т о ч н и к а и у с л о в и я в о з - б у ж д е н и я . Для возбуждения флуоресценции могут быть использованы ртутно-кварцевые горелки СВД-120, ДРШ-100, ДРШ-1000, помещённые в металлический кожух. Используются также водородные или ксеноновые лампы, которые дают сплошной спектр излучения. Их применяют при монохроматическом возбуждении люминесценции. Источник сплошного спектра более универсален, а с помощью регулирования ин-

рны цепи монохроматора возбуждения можно менять интенсивность возбуждающего света. Но при облучении с помощью ртутно-кварцевой горелки можно получить высокую чувствительность, так как мощность отдельных линий выше. При монохроматическом возбуждении часто пользуются дополнительными светофильтрами для устранения примесей возбуждающего света иной длины волны. Рецепты приготовления жидкостных светофильтров описаны Калвертом и Питтоном [73]. При выделении области возбуждения с помощью двойного монохроматора дополнительная примесь возбуждающего света отсутствует. Горелки охлаждают проточной водой или потоком воздуха, создаваемым вентилятором.

Часто пользуются заводскими осветителями ОМ-17, ОМ-18, ЛМ-1, ЭП-1Н, осветителем комплекта спектрографа ИСП-53. В последнем источником возбуждения служит ртутно-кварцевая лампа ПРК-2. Он снабжен светофильтрами, которыми в спектре ртути выделяются линии: 366; 404,7; 435,8; 546,1; 577/579 нм.

АМН СССР был разработан источник возбуждения на мощной ксеноновой лампе ДКСН-1000 с водяным охлаждением. Эта лампа даёт сплошной спектр в видимой и ультрафиолетовой областях. Источник возбуждения может быть использован при регистрации спектров веществ, обладающих весьма малой интенсивностью свечения. Его также успешно используют для монохроматического возбуждения флуоресценции в ультрафиолетовой области спектра при регистрации флуоресценции бензола, ксилола, толуола. Линии ртути 254 и 265 нм ламп СВЛ-120 и СВЛ-250 обладают весьма небольшой мощностью, что снижает чувствительность определения в растворах органических экстрагентов соединений ароматических углеводородов с одним атомом. Поэтому для повышения возможности метода необходим мощный источник возбуждения.

Возбуждение флуоресценции монохроматическим светом может быть осуществлено с помощью монохроматора УМ-2, дифракционного монохроматора ДМР, монохроматора АМН СССР. Последние монохроматоры позволяют возбудить флуоресценцию и в ультрафиолетовой, и в видимой областях спектра.

При регистрации спектра в ультрафиолетовой области для возбуждения используют монохроматоры с кварцевой оптикой.

П е р в ы ч н ы е с в е т о ф и л ь т р ы , к о н д е н - с о р ы , к в е т ы . Первичными светофильтрами являются область возбуждения, в которой исследуемые соединения поглощают максимум света. Для возбуждения соединений, флуоресцирующих в области 400–450 нм, используют первичные светофильтры с максимумом пропускания в области 366 нм (УФС-3, УФС-2, БС-7) для веществ, флуоресцирующих в области 500–600 нм, применяют светофильтры с максимумом пропускания в области 436 нм (ФС-7+ФС-11). Набиратель-

ная регистрация спектра флуоресценции соединений в красной, ближней к инфракрасной, области (некоторые красители) может быть осуществлена путём их возбуждения с помощью светофильтров с максимумом пропускания в области 500–600 нм (ОС13 + СЗС22; КС18 СС5; КС10 + СЗС 21) [19].

Для возбуждения флуоресценции в ультрафиолетовой области спектра пользуются светофильтрами с максимумом пропускания в области 260–290 нм (газовые светофильтры, фильтры Бекстрема) [206]. Конденсоры и кюветы для регистрации спектров в ультрафиолетовой области должны быть выполнены из кварца. Кварц способен флуоресцировать в ультрафиолетовой области спектра. Но отдельные сорта оптического кварца обладают незначительной по интенсивности собственной флуоресценцией.

Обычно заказывают прямоугольные кюветы из кварца объёмом от 1,0 до 10,0 мл, склеенные из пластинок оптического кварца. В отдельных случаях при регистрации спектров флуоресценции и фосфоресценции в видимой области используют пробирки. Набор дополнительного оборудования к спектрографу ИСП-53 комплектуется специальными кюветами такой геометрии, которая препятствует попаданию в щель спектрографа рассеянного света и вместе с тем позволяет оптимально использовать излучение образца. Специальными кюветами пользуются для регистрации спектров порошков, растворов при температуре жидкого азота.

При работе с низкими температурами кювету помещают в криостат. Криостат представляет собой камеру, изолированную от воздействия постороннего тепла, в которой длительное время сохраняется низкая температура. Простейшим криостатом является сосуд Дюара с прозрачными стенками. Удобны криостаты из тефлона и пенопласта. Запотевание стекол окон камеры, через которые облучают образец и регистрируют возникающее излучение, устраняют, обдувая их поверхности струёй воздуха. Конструкции криостатов для спектрофотометрических исследований описаны А.А. Кононенко и соавторами [93], М.П. Филипповым, Ю.Л. Высоцким [194].

П о д б о р п р и ё м н и к о в и з л у ч е н и я . При фотографической съёмке спектра приемником излучения служит фотопластинка или фотоплёнка. Незначительная по интенсивности флуоресценция природных вод требует длительной экспозиции (3–5 часов). При таких длительных экспозициях значительные искажения вносит попадание постороннего рассеянного света. Для уменьшения времени экспозиции используют фотоматериалы высокой чувствительности, в частности, фотоплёнку для аэроснимков чувствительностью 500 ед. ГОСТа.

Наиболее практичные фотоприемники – фотоэлектронные умножители. Подбор фотоумножителей осуществляется с помощью каталога "До-

симметрическая, радиометрическая, электроно-физическая аппаратура и её элементы" [56]. Для регистрации излучения в видимой области используют ФЭУ с мультищелочным фотокатодом в стеклянном баллоне; в ультрафиолетовой области - с сурьмяноцезиевым фотокатодом и кварцевым окошком. Специальные фотоумножители имеют исключительно высокую чувствительность в красной и инфракрасной областях спектра.

В качестве высокочувствительных приёмников излучения начинают использоваться электроно-оптические преобразователи (ЭОП). Применение ЭОП позволяет повысить чувствительность приёмных устройств на два порядка [151]. Экраны ЭОП изготавливаются из сульфида цинка. Основные их элементы - фотокатод, электронная линза, катодоминируемый экран, который под действием электронов излучает свет в видимой области.

Фотоэлектрические преобразователи могут использоваться для обнаружения свечения веществ, флуоресцирующих в ультрафиолетовой и инфракрасной областях спектра. Необходимо учесть, что чувствительность фотоумножителя в отдельных областях спектра отличается от истинного распределения энергии излучения по спектру. Поправка на чувствительность фотоприёмника вводится при необходимости получения истинного спектра соединения. Для количественных определений градуировочный график строится по максимуму флуоресценции различных концентрированных стандартного раствора без внесения поправки на чувствительность приемника излучения к данной области спектра. Относительные отсчеты интенсивности стандартного раствора сравниваются с интенсивностью аналитической линии в спектре вещества, которое определяется.

Задача состоит в определении чувствительности приёмника излучения к различным длинам волн (распределение световой энергии по спектру). В качестве эталона можно использовать лампочку накаливания, у которой распределение световой энергии по спектру откалибровано на специальных установках (Институт спектроскопии АН СССР). Входную щель коллиматора спектрографа освещают отраженным светом лампочки-эталона. Откалибровочной может служить алюминевая пластинка размером 40x40 см с навешенной на ее поверхность окисью магния. В качестве калибровочного эталона можно также использовать стандарт белой люминесценции, состоящий из смеси люминофоров или растворов флуорохромов, спектры которых были зарегистрированы на откалиброванном приборе.

Для определения кривой чувствительности спектрального прибора, предназначенного для регистрации спектров в видимой области, используют лампу накаливания СИ-6. Распределение энергии в излучении вольфрамовой нити лампы накаливания в видимой области хорошо совпадает с распределением энергии в спектре абсолютно черного

тела. При градуировке необходимо точно поддерживать постоянную величину силы тока, при которой было определено значение её цветовой температуры.

Для определения относительной чувствительности установки регистрирует интенсивность световой энергии, попадающей на фотокатод ФЭУ во всей рабочей области прибора. Величина отклонения I (наблюдается на самописце при данной длине волны λ) равна $I_{\text{набл.}} = I_{\text{ист.}} \cdot K_{\lambda}$. $I_{\text{ист.}}$ - истинная интенсивность эталонного источника света при длине волны λ , определяется по таблице, соответствует значению цветовой температуры эталонной лампы и выражается в единицах шкалы записывающего прибора. K_{λ} - чувствительность ФЭУ к длине волны λ . Затем находят поправку на чувствительность приемника излучения для длин волн через промежутки, равные 10 нм. Поправку I_{λ} для определения относительной чувствительности фотоприемника к данной длине волны находят по формуле:

$$I_{\lambda} = \frac{I_{\lambda}}{I_0}$$

где I_0 - интенсивность флуоресценции, зарегистрированная на установке в относительных единицах шкалы самописца при данной длине волны; I_{λ} - величина светового потока, испускаемая эталоном при этой же длине волны в относительных единицах.

Истинный спектр вычисляется после умножения относительных значений интенсивности при каждой длине волны на поправку I_{λ} .

Определение концентрации отдельных соединений, находящихся в смеси

Флуоресценция веществ в их смеси зависит от относительной концентрации каждого соединения в растворе и квантового выхода поглощенной им энергии, от способа возбуждения флуоресценции каждого из компонентов смеси, переноса энергии возбуждения между соединениями, находящимися в растворенном состоянии, от присутствия в данной пробе тушителей.

Регистрируемый спектр принадлежит одному конкретному соединению, а не смеси веществ. Об этом говорят следующие данные:

1. Спектры поглощения и возбуждения соответствуют спектру флуоресценции.
2. Спектр флуоресценции не зависит от длины волны возбуждающего света.
3. В различных растворителях спектр флуоресценции может менять свою структуру, что используется для его диагностики [104].

При намерении образцов, имеющих узкие полосы излучения, правильность регистрации интенсивности полосы зависит от скорости развёртки спектра и ширины щели. Чем меньше скорость развёртки спектра и уже щель, тем более точные показания даёт прибор.

Для определения концентрации отдельных соединений, находящихся в смеси, пользуются следующими приёмами:

а) снимают спектры возбуждения и флуоресценции при длинах волн возбуждающего света, при которых каждое из исследуемых веществ имеет максимум поглощения;

б) составляют систему линейных уравнений для всех определяемых веществ, находящихся в анализируемой смеси.

Исследование сложных природных смесей органических веществ, находящихся в водах, с помощью квазилинейчатых спектров люминесценции проведено Т.А. Теплицкой [184], Г.Е. Федосеевой, А.Я. Хесиной [193]. У многоатомных органических веществ спектры широкополосные и часто в смеси накладываются друг на друга. Это происходит потому, что их молекулы представляют собой системы с большим числом степеней свободы, где на каждое электронное состояние накладываются многочисленные состояния колебания и вращения. Люминесценция такой молекулы — результат её внутренних электронно-колебательных переходов. В многоатомной молекуле многочисленные колебания электронов отдельных ее структур взаимодействуют друг с другом, что проявляется в размытости полос электронных спектров. Эти взаимодействия, обуславливающие диффузность полос электронных спектров, могут существенно изменяться для одной и той же молекулы в зависимости от условий внешней среды. При уменьшении общего запаса колебательной энергии молекул (понижении температуры) и при уменьшении взаимодействия молекулы с окружающей средой внутри и межмолекулярные взаимодействия в меньшей степени отражаются на её электронных переходах [142, 184].

Появление квазилинейчатых спектров при температуре жидкого азота или гелия связано с тем, что молекулы люминесцирующих веществ, внедряясь при низкой температуре в кристаллическую решетку растворителя, лишены возможности свободно вращаться и не могут взаимодействовать между собой и с молекулой растворителя. Благодаря этим обстоятельствам молекула обнаруживает свои электронные и колебательные состояния, что выражается в появлении вместо широких размытых полос, ряда узких линий, по ширине почти таких же, как линии металлов в эмиссионном спектре. Поэтому такие спектры называют квазилинейчатыми.

Квазилинейчатая структура спектров флуоресценции может быть обнаружена только в растворителях, которые легко кристаллизуются. Кристаллическая решетка замороженного растворителя представляет собой матрицу, в которой без существенной деформации размещаются

молекулы флуоресцирующего вещества, но с ограниченной свободой вращения и колебания. При замерзании растворитель легко кристаллизуется. Он должен быть нейтрален по отношению к внедренным молекулам и оптически прозрачен в той области, в которой поглощает и излучает растворённое в нём вещество.

Как отмечает Т.А. Теплицкая [184], флуоресцирующее вещество внедряется в кристаллическую решетку растворителя как молекулы примесей в соединениях включения. Молекулы растворенного вещества могут находиться или в полости молекулы растворителя или в полости образованной пространственной решетки растворителя в результате совместного расположения многих маленьких молекул. В растворителях, дающих при замерзании стеклообразную массу, эффекта столь резкого сужения спектральных полос не наблюдается.

Каждому электронно-колебательному переходу в квазилинейчатых спектрах соответствует целая группа линий. Структура её не меняется вдоль всего спектра флуоресценции или фосфоресценции, но очень сильно зависит от растворителя и условий кристаллизации раствора. Такие группы получили название мультиплетов: группа линий из двух (дуплеты), трех (триплеты) и большого количества линий (мультиплеты).

Для проведения качественного и количественного анализа определения веществ с помощью метода регистрации квазилинейчатых спектров следует подобрать растворитель, в котором углеводороды имеют резкие квазилинейчатые спектры флуоресценции. Концентрации исследуемого вещества должны быть небольшими, так как увеличение их приводит к возникновению взаимодействия между молекулами растворенного соединения, к миграции энергии между молекулами растворённого соединения, к миграции энергии между различными компонентами сложной смеси, а возможно, и к образованию агрегатов. При больших концентрациях возникает диффузный фон, расширение линий. Сложные смеси должны быть сначала разделены хроматографически. Нефлуоресцирующие соединения (нафтоновые углеводороды) можно перевести во флуоресцирующие (ароматические) с характерными квазилинейчатыми спектрами. Наиболее часто в качестве растворителя применяют Н-гексан. Для выделения фракции ароматических углеводородов Т.А. Теплицкая использовала Н-гептан.

В некоторых случаях представление полос излучения люминесцирующих веществ с помощью функции гауссовского распределения помогает выявить в сложном широкополосном спектре отдельные соединения [231]. Диаграмма распределения энергии в спектре отдельных соединений рассматривается как функция частоты (длины волны), которая описывается симметричной функцией

$$I(\nu) = A_0 e^{-B(\nu - \nu_0)^2}$$

Показано, что кривая распределения энергии в спектрах некоторых индивидуальных соединений имеет симметричный характер. Рассчитывает кривые симметрии излучения $E(\nu)$, состоящего только из одной полосы, и сопоставляет со спектрами смеси веществ, в которых выявляются области, имеющие отклонения от гауссовского распределения спектра. Можно предположить, что в этих областях скрыта флуоресценция веществ, которые не могут быть обнаружены вследствие взаимного наложения спектров смеси. На область расположения максимума и на ширину полосы оказывает влияние температура раствора среды. В вязких растворителях ширина полос уже. Расчёт кривой симметрии позволяет определить среднюю точку и центральную линию в спектре, а также величины отклонения от них.

Вебер [307] предложил использовать матричный анализ для определения отдельных флуоресцирующих соединений в их смеси. Матрица представляет собой упорядоченную систему чисел, записанную в виде прямоугольной таблицы, а её определитель есть число, которое связано со всевозможными перестановками n , следовательно, содержит n слагаемых. Таким образом, получается система из n чисел, расположенных в прямоугольной таблице из n строк и n столбцов. Строки и столбцы таблиц называются рядами матриц. Числа a_{ij} (где $i = 1, 2 \dots n$, $j = 1, 2 \dots n$), составляющие данную матрицу, называются её элементами. i — обозначает номер строки элемента, а j — номер его столбца. Если рассматривается матрица EF_{nn} , то говорят, что матрица EF имеет тип $n \times n$. Если $n = n$, то матрица называется квадратной порядка n . Если же $n \neq n$, то матрица называется прямоугольной.

Если в исследуемой системе присутствует несколько компонентов, то матрица имеет следующий вид:

$$|EF|_{nn} = \begin{vmatrix} \sum_k F_{11}^k & \sum_k F_{12}^k & \dots & \sum_k F_{1n}^k \\ \sum_k F_{21}^k & \sum_k F_{22}^k & \dots & \sum_k F_{2n}^k \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \sum_k F_{n1}^k & \sum_k F_{n2}^k & \dots & \sum_k F_{nn}^k \end{vmatrix}$$

Коэффициент k относится к различным компонентам.

F_{ik} — поглощение данной фракции (k) при длине волны i .
В матрице $|EF|_{nn}$ элементы n строк обозначают интенсивность при данной длине волны возбуждения; элементы n столбцов — интенсивность излучения при данной длине волны.

Матричный элемент F_{ij} — излучение при длине волны j , возбуждаемое длиной волны i .

$$F_{1j}^k = A_{1r1}^k B_{1q1j}^k$$

[illegible]

$$|KF|_{2 \times 2} = \begin{vmatrix} \sum_k f_1 k q_{1j} k & \sum_k f_1 k q_{11} k \\ \sum_k f_n k q_{nj} k & \sum_k f_n k q_{n1} k \end{vmatrix}$$

$$\frac{a_{1j}^k}{a_{11}^k} - \frac{a_{n1}^k}{a_{n1}^k} = R_{j1}^k$$

$$\Delta = (\sum_k f_{1k} a_{11k} R_{j1k}) (\sum_k f_{nk} a_{n1k}) - (\sum_k f_{1k} a_{11k}) (\sum_k f_{nk} a_{n1k} R_{j1k})$$

В соответствии с обычными критериями спектроскопии спектры флуоресценции могут быть признаны частично разделенными на компоненты, если каждая спектральная область может быть отнесена к отдельному компоненту, т.е. каждый компонент смеси должен излучать в своей самостоятельной спектральной области. В спектре двух компонентов (2×2 минор не равен нулю 3×3 минор $= 0$) спектры могут быть частично разделены, если, по меньшей мере, есть одна область, где все 2×2 детерминанты равны нулю.

При исследовании ИР -матрицы для анализа спектров флуоресценции смесей могут возникнуть разные ситуации. Спектр люминесценции обладает способностью обнаруживать изменения, связанные с длиной волны возбуждающего света. Это происходит в том случае, если растворитель поглощает свет в той же области, что и растворенное в нём флуоресцирующее вещество. В отдельных случаях (полосы возбуждения и излучения близки друг к другу) рассеяние возбуждающего излучения может дополнительно накладываться на флуоресценцию коротковолновых компонентов. Определенное значение в этом случае имеет хорошее разрешение монохроматора возбуждения. Было показано, что при разрешающей дисперсии канала возбуждения и наблюдения 13 м.м. записи спектров при ширине полосы 6 нм их искажения не происходило и достигалось хорошее разделение двух рядом лежащих полос флуоресценции. Показания детектора должны быть линейны со степенью измеряемого фототока ФЭУ, иначе в спектре могут появиться искажения, связанные с изменением силы сигнала, который поступает от фотоумножителя.

От напряжения, подаваемого на ФЗУ, зависит его чувствительность, но вместе с тем с увеличением напряжения резко возрастают шумы, и слабые полосы излучения искажаются шумами установки. Поэтому лучше добиваться увеличения чувствительности с помощью средств, не связанных с приёмно-усилительной частью установки (снижением рассеянного света, хорошей фокусировкой, усилением возбуждающего света), и не работать в пределах напряжений, при которых возникают большие шумы. Повышения чувствительности можно добиться, регистрируя спектр с помощью установки счёта фотонов (например, установки "Волна") вместо самописца.

Регистрация спектров фосфоресценции

Исследования спектров фосфоресценции используют для качественного и количественного определения соединений в их смеси [243, 246, 254, 273, 311]. Число соединений, фосфоресцирующих при комнатной температуре, меньше числа флуоресцирующих, поэтому их можно выделить из смеси [311].

Фосфороскоп отфильтровывает спектр флуоресценции и возбуждающий свет, а поэтому возбуждать фосфоресценцию можно нефльтрованным ультрафиолетовым излучением, не прибегая к монохроматору, что позволяет значительно повысить чувствительность обнаружения фосфоресцирующих соединений. Вращение фосфороскопа осуществляется синхронным мотором. Периоды возбуждения должны быть немного меньше, чем периоды темноты. Это позволяет уменьшить проникновение рассеянного света. Время жизни большинства фосфоресцирующих молекул в растворе, лишенном кислорода, при комнатной температуре — 1–10 мсек. С понижением температуры длительность и интенсивность фосфоресценции возрастает [309, 310, 311] (табл.6). При одинаковых температурах интенсивность фосфоресценции ниже, чем интенсивность флуоресценции [287, 288]. Многие изомеры углеводородов почти не отличаются друг от друга по спектрам флуоресценции, но имеют существенные отличия по фосфоресценции. С помощью спектров фосфоресценции замороженных растворов можно определить наличие бициклических ароматических соединений, пользуясь спектральными приборами, предназначенными для видимой области.

В природной воде при комнатной температуре фосфоресценция не обнаруживается. Она начинает проявляться при выделении флуоресцирующих веществ в зоне капиллярного поднятия на бумаге или при замораживании воды в жидком азоте. В этом случае её длительность с 10^{-3} сек увеличивается до нескольких, а иногда и десятков секунд.

Таблица 6

Квантовый выход фосфоресценции и флуоресценции при 77°K
(по Паржеру, 1968)

Соединения	Длительность жизни воз- бужденного состояния, τ сек.	Φ_p/Φ_f	Квантовый выход фос- форесцен- ции, Φ_p	Квантовый выход флюо- ресценции, Φ_f
Бензол	8,0	0,89	0,19	0,21
Нафталин	2,8	0,02	0,008	0,39
Антрацен	-	-		
Фенантрен	4,3	0,80	0,11	0,14
Флуоран	7,1	0,14	0,07	0,54
Дифенил	5,1	1,4	0,25	0,17
Трифенил	17,1	5,1	0,28	0,06
Фенол	2,6	0,93	0,37	0,40
Бензойная к-та	2,0	10	0,27	мало
Ацетонилд	3,6	10	0,05	мало
4-нитро- и - этиланилин	0,4	10	0,12	мало
и -фенил-2-нафти- ламин	1,3	1,7	0,44	0,26
Ацетофенон	0,008	10	1,0	мало
Бензофенон	0,005	10	0,72	мало
Бензон	0,018	10	0,54	мало
Бензил	0,005	10	0,67	мало
Антрахинон	0,004	10	0,41	мало

Измерение флуоресценции в ультрафиолетовой области спектра

Измерение флуоресценции в ультрафиолетовой области спектра непосредственно воды и экстрагированных из неё веществ органическими растворителями представляется весьма перспективным приёмом для обнаружения в водах открытых водоёмов бензола, нафталина и их производных.

Для возбуждения флуоресценции используют область спектра 250-290 нм. Определить соединения промышленного синтеза, флуоресцирующие в ультрафиолетовой области непосредственно в воде во многих случаях невозможно, так как их смеси образуют один сплошной широкополосный максимум. Известные технические трудности представляет обнаружение в экстрактах из воды бензола, его метил-производных, толуола, ксилола. Эти соединения флуоресцируют в области 280-290 нм.

Для возбуждения используют маломощные линии ртути 254; 265 нм. Вместе с тем выход флуоресценции бензола, по сравнению с другими ароматическими углеводородами, очень невелик (табл.7).

Таблиц. 7

Выход флуоресценции некоторых ароматических углеводородов

Соединения	Максимум поглощения, нм	Флуоресценция, нм	Выход флуоресценции в Гексане
Бензол	254	250-300	0,04
Нафталин	275-314	300-365	0,10
Антрацен	275-380	372-460	0,32
Фенантрен	250-346	348-407	0,01
Флуорен	246-260	302-370	0,54
Бифенил	246-260	318	0,23
Трифенилметан	262	260-310	0,23

Поэтому необходимо для возбуждения фенола использовать люминесцентную лампу или мощные источники возбуждения: лампы ДРШ-1000 или ДКСШ-100. Условия возбуждения флуоресценции нафталина и других соединений, флуоресцирующих в области длиннее 300 нм, более выгодны, так как линия ртути 290 нм значительно интенсивнее линий 254; 265 нм.

Для выделения этой области применяют хлор-бромный газовый светофильтр, максимум пропускания которого 250-280 нм [116].

В качестве приёмника излучения используют ФЭУ с кварцевым окошком (ФЭУ-38, ФЭУ-57). Специальный флуорометр для этой цели предложен Коневым и Козуниным [92]. Он применён для определения содержания белков. Для возбуждения флуоресценции служила бактерицидная лампа БУВ-15, свет от которой фильтруется с помощью газового фильтра (кварцевой трубки, 7 см длиной и 5 см в диаметре, заполненной парами хлора под атмосферным давлением) и светофильтра УФС-1. Светофильтры выделяют линию 253,8 нм, которой и возбуждается флуоресценция триптофала белков.

Измерения проводят в проходящем свете при скрещенных светофильтрах, поэтому на выходе помещают светофильтр УФС-3, который отсекает возбуждающий свет и пропускает излучение флуоресценции белка 310-380 нм. В качестве регистрирующего устройства было использовано фотосопротивление ФСК-1, фототок регистрировался микроамперметром М-95 чувствительностью $1 \cdot 10^{-8}$ а/дел.

Ультрафиолетовый фотометр Л.Г. Пикулика и В.А. Машенкова [134] (рис.3) состоит из источника возбуждения (ртутной лампы СДВ-120А) излучение от которой проходит через кварцевую колету шириной 5 см,

заполненную газообразным хлором, и фильтр Бекитрема (28,2 г сернокислого кобальта и 98,4 г сернокислого никеля в 200 мл бидистилли-

рованной воды в кварцевой ковete толщиной 1 см). С помощью этих фильтров выделяется возбуждающий свет с максимумом излучения 235-280 мик.

Кюветы с измеряемыми и эталонными растворами установлены на вращающемся диске, с помощью которого они попеременно вводятся в область возбуждающего света. Свет люминесценции регистрируется под прямым углом к направлению возбуждения при помощи ФЭУ-18. Перед окошком фотомножителя расположены две щели (вертикальная и горизонтальная): для регулировки количества испускаемого света и фильтр УФС-3 для отсеечения возбуждающего излучения. Фототок умножителя попадает на усилитель постоянного тока или же регистрируется непосредственно зеркальным гальванометром. Для питания ФЭУ-18 применена система сухих батарей с общим напряжением 1000 в.

В качестве эталона, который давал бы возможность сравнивать результаты анализа между собой,

Л.Г. Пикулик и В.А. Машенков опробовали водный раствор триптофана, стандартный рассеиватель (матированное кварцевое стекло) и твердый раствор пирена в метилметакрилате. Наиболее удачным по своим спектральным характеристикам оказался раствор триптофана. Однако необходимо учитывать некоторую нестойкость этого соединения к влиянию света.

Методы измерения хемилюминесценции и сверхслабой биохемилюминесценции в эксперименте с природной водной средой

Хемилюминесцентные методы, применяемые в химии и физике для изучения элементарных взаимодействий, в эксперименте с природной водой и с водными организмами, используются для изучения ранних

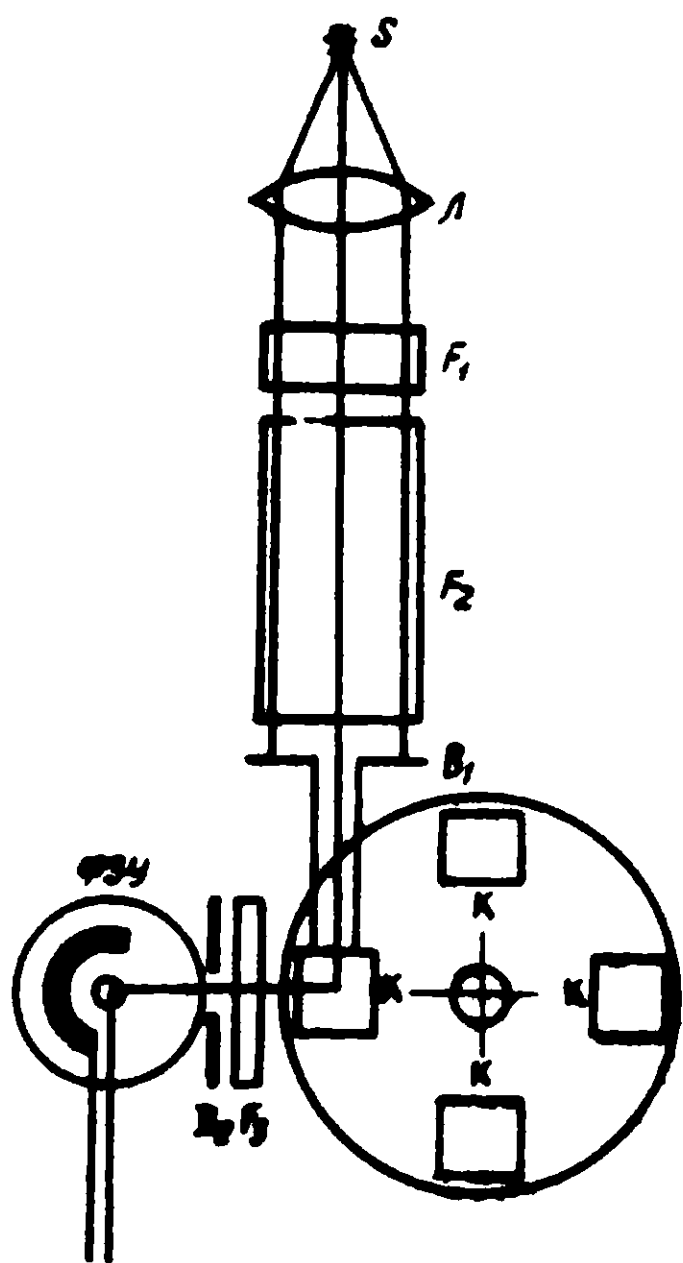


Рис.3. Ультрафиолетовый фотометр:

S - источник возбуждающего света, Л - кварцевая линза, F₁ - жидкостный фильтр Бекитрема, F₂ - газовый хлорный фильтр, F₃ - стеклянный фильтр УФС-3, D₁ - щель входа, D₂ - щель выхода, К - кюветы.

реакции гидромонтов на действие токсиантов [62] . В исследовани-
ях отдельных стадий окисления веществ, вносимых в водоём со сточ-
ными водами, они позволяют выявить отдельные фазико-химические
факторы, влияющие на этот процесс [160, 162, 239] .

Хемилюминесцентный метод можно применить для качественного и
количественного определения отдельных соединений [283] . Ранее бы-

ли описаны фотографи-
ческий и фотоэлектри-
ческий методы регист-
рации интенсивности
свечения. Сейчас эти
методы на практике не
применяются. Для ре-
гистрации слабых све-
товых потоков необхо-
димо комплект элект-
ронного оборудования
(фотоумножители, са-
мописцы ЭП-09МЗ или
КСП-4; усилители УИ-2
или УИС), отдельные
блоки которого могут
заменяться в зависи-
мости от конкретно
стоящей задачи. Для
изучения кинетики
окислительно- восстано-
вительных реакций и
отдельных их стадий,
протекающих с образо-
ванием активных про-
межуточных продуктов,

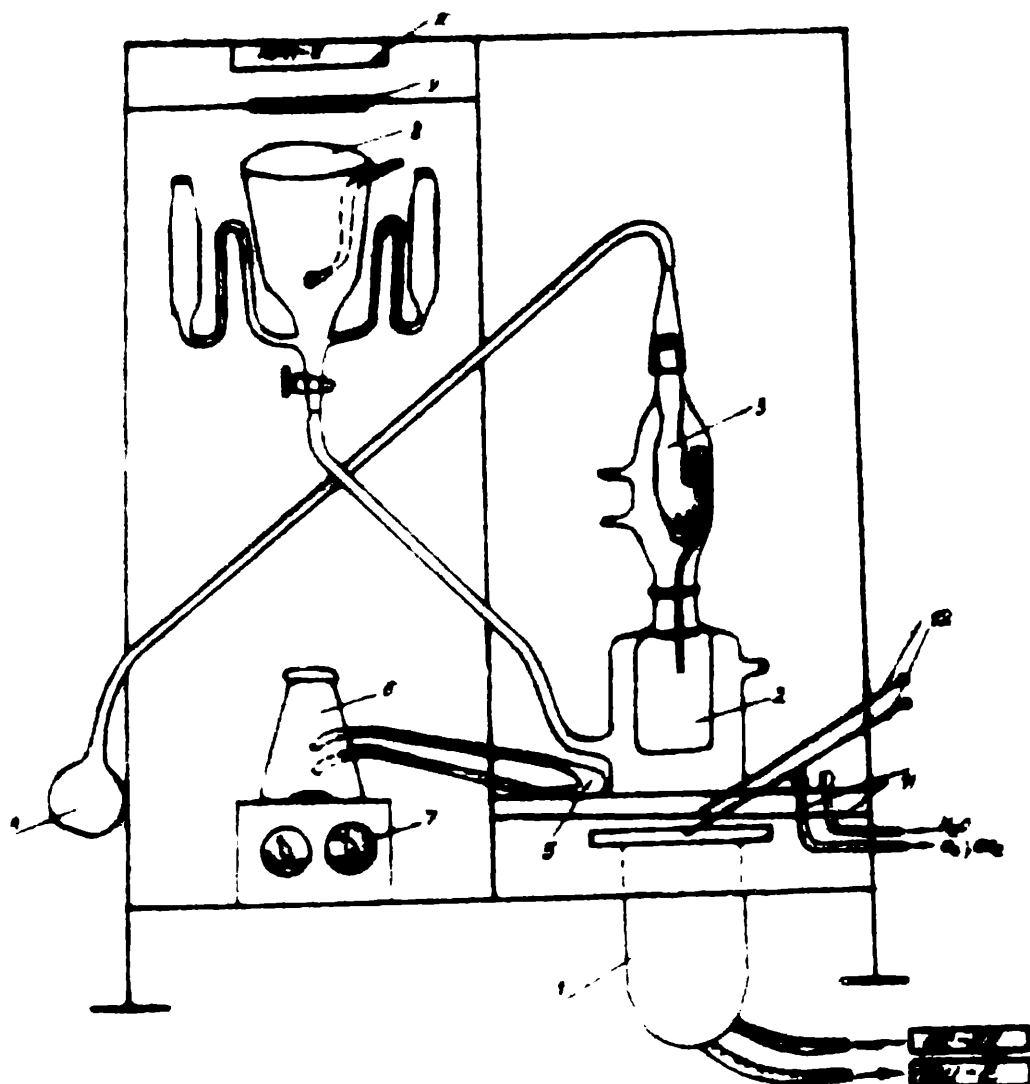


Рис.4. Камера для изучения элементарных
стадий окисления в модельных опытах с
природными водами.

1 - ФЭУ-42, 2 - кювета для измерений,
3 - измеритель, 4 - группа, 5 - кювета
злоская, 6 - смеситель, 7 - магнитная ме-
шалка, 8 - кювета для облучения, 9 - све-
тометр, 10 - кварцевая горелка, 11 - по-
дача воды и газа, 12 - ручки диафрагмы
и загрузка.

сотрудники Института химической физики АН СССР создали установку
СН-7 [208] . Схематически она изображена на рис.5. Методы регист-
рации индуцированной и спонтанной хемилюминесценции в биологиче-
ских системах разработаны на кафедре биофизики биолого-почвенного
факультета [99, 181-183] . При изучении элементарных взаимодейст-
вий веществ в природной водной среде, очень сложной по составу, но
с низким содержанием отдельных ионизированных, рационально сочетать
опыты с модельными системами, разработанными в гидрохимии с тех-
никой биофизического эксперимента и приёмами химической кинетики.
Использование реакторов и реакторных сосудов с регулируемым уо-
ловиями среды позволяет выделить из общей суммы условий специфику
отдельных воздействий. В биофизическом эксперименте возникает воз-

возможность охарактеризовать тонкие взаимоотношения популяции и среды. Ниже описаны приборы и установки, использованные для регистрации световых потоков с учетом специфики эксперимента с природной водной экосистемой.

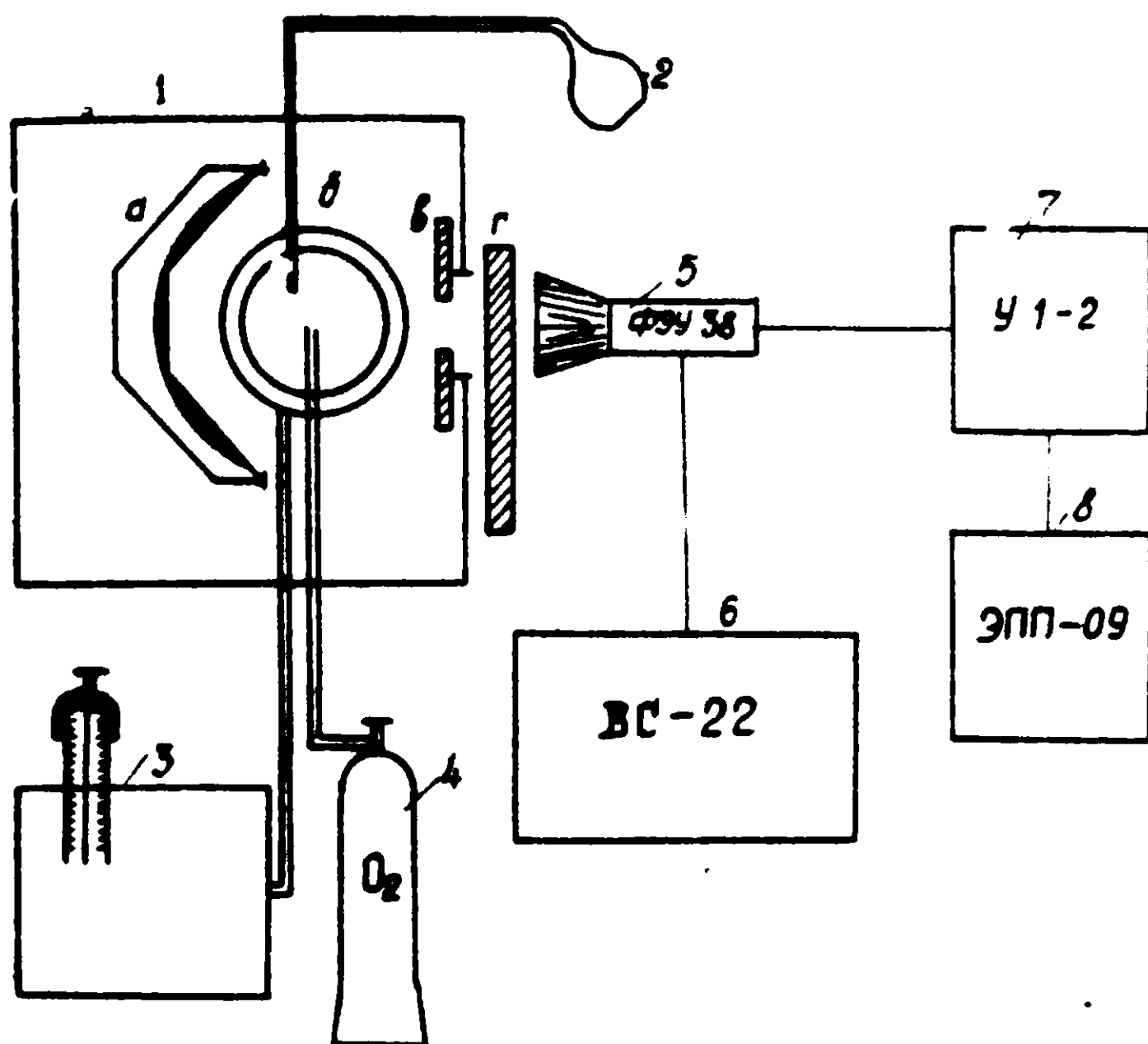


Рис.5. Схема установки ИХ-АН СССР для измерения слабых световых потоков.

1 - светонепроницаемая измерительная камера, параболлические зеркала (а) для фокусирования хемилуминесценции на фотокатод фотоэлектронного умножителя (5), (б) - стеклянный реакторный сосуд с термостатируемой рубашкой. Термостатирование производится водой из термостата (3). Введение в реакторный сосуд добавок вытесняющих или ингибирующих веществ осуществляется пневматически (2). Осуществляется подача кислорода (4) или другого газа. Для предохранения фотоэлектронного умножителя от ярких световых потоков пользуются диафрагмой (в) и заглушкой (г) реакторной части. Приемник излучения ФЭУ-38 (5), электрометрический усилитель (7), блок высокого напряжения (8) и самописец (ЭПП-09).

Установки для регистрации слабых световых потоков и измерительные камеры

Измерительные камеры предназначены для проведения исследований по выявлению действия отдельных физико-химических и биологических факторов на процесс окисления органических веществ в природных и загрязненных водах. Измерительные камеры широко использу-

ются для проведения работ в области химической кинетики, в которых о ходе изучаемого процесса судят по изменению интенсивности хемилюминесценции. В области гидрохимии и гидробиологии измерительные камеры могут применяться для изучения механизмов процесса самоочищения в модельных системах. Они позволяют оценить качественно и количественно влияние изменений по определенной программе условий водной среды на процессы деструкции органического вещества. К измерительным камерам, предназначенным для гидрохимических и гидробиологических работ, предъявляются следующие требования:

а) необходимо обеспечить светонепроницаемость, защиту ФЭУ от попадания интенсивных световых потоков, возможность выбора условий измерений с помощью подбора светофильтров, диафрагмы, фокусирующих зеркал и т.д.;

б) иметь возможность менять условия водной среды (температуры, газовый и световой режим) и контролировать заданные параметры;

в) осуществлять регистрацию изменений водной среды, связанных со всей совокупностью биологических факторов биоценоза изучаемого водоема, опытного бассейна или аквариума;

г) создать условия к транспортировке и работе в судовых условиях.

Измерительные камеры состоят из светонепроницаемого кожуха, реакторного сосуда или реактора и вспомогательных приспособлений, обеспечивающих возможность изменения условий среды в изучаемом образце воды.

Реакторные сосуды различны по объёму (25,0–500 мл) и выполнены из прозрачного стекла, снабжены термостатирующей рубашкой и имеют вводы для наполнения их исследуемой водой, поступления необходимых реактивов и продувания газов. Они снабжены приспособлениями для отбора пробы из исследуемого образца в заданные промежутки времени или соединениями с опытным водоёмом, с которым они обмениваются водой.

Сосуды должны быть удобными при мытье и чистке. Важно следить, чтобы в процессе эксперимента не изменялась прозрачность их стенок и был постоянным объём воды, излучение которого регистрируется, так как эти два фактора могут искажать результаты измерений. Дополнительное оборудование измерительной камеры состоит из: ультратермостата, баллонов с кислородом, углекислотой и инертным газом, приспособлений для облучения образцов видимым и ультрафиолетовым светом, электрохимической ячейки, кранов для отбора проб, вбрасывателя, штатива для реакторного сосуда и образцов.

Оптическая часть камеры состоит из набора светофильтров, позволяющих вести измерения в узких областях спектра. Больше всего

здесь подходит набор из 16 интерференционных светофильтров, охватывающих весь видимый диапазон спектра. Смена фильтров должна производиться без вскрытия камеры. Регулирование количества света, попадающего на фотокатод ФЭУ, производят диафрагмой.

Конструкция камеры должна обеспечивать сохранение постоянной геометрии между образцом, оптической системой и приёмником излучения. Перед эксплуатацией камеры необходимо её проверить на светонепроницаемость. С этой целью после подачи на ФЭУ высокого напряжения измеряют фон установки. Затем с помощью источника света (электролампы) проверяют все сочленения камеры. В тех местах, где при приближении электролампы отмечено увеличение фона, светонепроницаемость нарушена.

Самые незначительные нарушения светонепроницаемости, увеличивая фон установки, уменьшают её чувствительность, поэтому контроль светонепроницаемости необходимо осуществлять периодически и проверять возможность попадания света по стеклянным соединениям между реакторным сосудом и кюветами для облучения образцов. Эти соединения выполняют из непрозрачного материала в виде "змейки". Такая конструкция позволяет устранить светопроводящие свойства стеклянных соединений. Сильно окрашенные и мутные воды существенным образом изменяют интенсивность хемилюминесценции. С помощью специальных фильтров необходимо определить величину ослабления хемилюминесценции взвесью и краской.

Специальные установки и конструкции

Они состоят из измерительной камеры, приёмного устройства и электронных блоков усиления и регистрации фототока [146, 253]. Определение малых потоков излучения стало возможным благодаря применению фотоэлектронных умножителей (ФЭУ) (рис.6). Пороговый световой поток может быть измерен ФЭУ, соединённым с установкой, которая позволяет считать отдельные кванты. Он зависит от соотношения между полезным сигналом от источника излучения и фона (колебаниями темнового тока). Это явление обусловлено тем, что с фотокатода ФЭУ и при отсутствии света происходит эмиссия электронов, количество которых возрастает с повышением температуры. В результате неосвещённый фотоумножитель даёт на выходе поток импульсов, воспринимаемых как темновой ток с беспорядочными тепловыми флуктуациями — "шумами". Колебания фона служили основной помехой, ограничивавшей чувствительность фотоумножителя. Охлаждение ФЭУ значительно снижает темновой ток. При охлаждении до температуры жидкого азота темновой ток снижается на 4–5 порядков. Кроме того, для охлаждения ФЭУ применяют сухой лёд, водопроводную воду, микрохолодильники на полупроводниках. В условиях глубокого охлаждения с фо-

тока тогда в темноте срываются лишь отдельные электроны и могут быть измерены световые потоки, состоящие из сотен и десятков квантов в секунду.

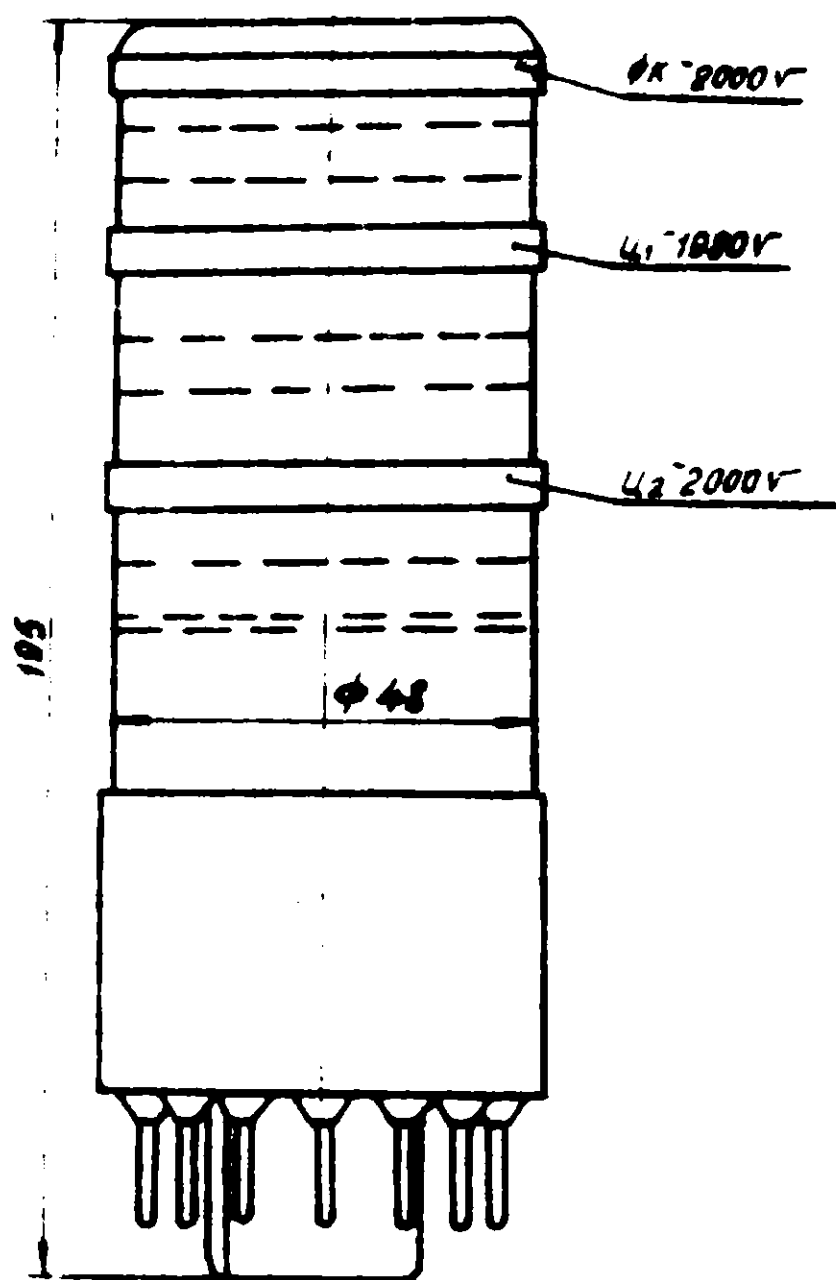


рис. 6. Фотоэлектронный умножитель ФЭУ-42. Стрелками показаны величины напряжений, подаваемые на ФЭУ.

Подбор приёмника излучения и схемы измерения световых потоков осуществляется в зависимости от их интенсивности. При регистрации хемилюминесценции, возникающей в окислительных реакциях с большим квантовым выходом и индуцированной фото- и электрохемилюминесценции, используют обычно фотоэлектронные умножители ФЭУ-17, 18, 19, 38, применяемые для детектирования световых вспышек.

Для каждого вида ФЭУ необходим делитель напряжения (рис. 7), расчёт которого производят, исходя из паспортных данных ФЭУ. Для улучшения характеристики ФЭУ его подключают к усилителю через катодный повторитель. Катодный повторитель расширяет полосу частот, помогая зарегистрировать им-

пульсы с очень малой длительностью. Одновременно катодный повторитель работает и как предварительный усилитель (лампа 6НП работает как катодник и как усилитель). В качестве детектора световых потоков малой интенсивности может быть использована сцинтилляционная приставка "П-349-2". Световые вспышки попадают на фотокатод ФЭУ, помещенный в светонепроницаемый кожух. Световые вспышки в фотоумножителе преобразовываются в импульсы тока, которые затем усиливаются им. Импульсы тока создают на выходе умножителя напряжения отрицательной полярности. С нагрузки фотоумножителя импульсы поступают через фазоинвертор и катодный повторитель на усилитель и пересчетную схему.

Сцинтилляционная приставка размещается в вертикальном положении на штативе, а исследуемый образец помещается в выдвигающую кассету и подаётся для измерения в тот момент, когда задвигается заслонка кассеты до упора.

Разработанный специально для измерения сверхслабых свечений ФЭУ-42 (рис.6) с очень низким уровнем шумов без глубокого охлаждения позволял сделать этот метод доступным для практических лабораторий. Методика измерения хемилюминесценции, позволяющая изучать зарождение и развитие цепных окислительных реакций в биологических системах, разработана сотрудниками кафедры биофизики биолого-почвенного факультета МГУ [1, 31, 182].

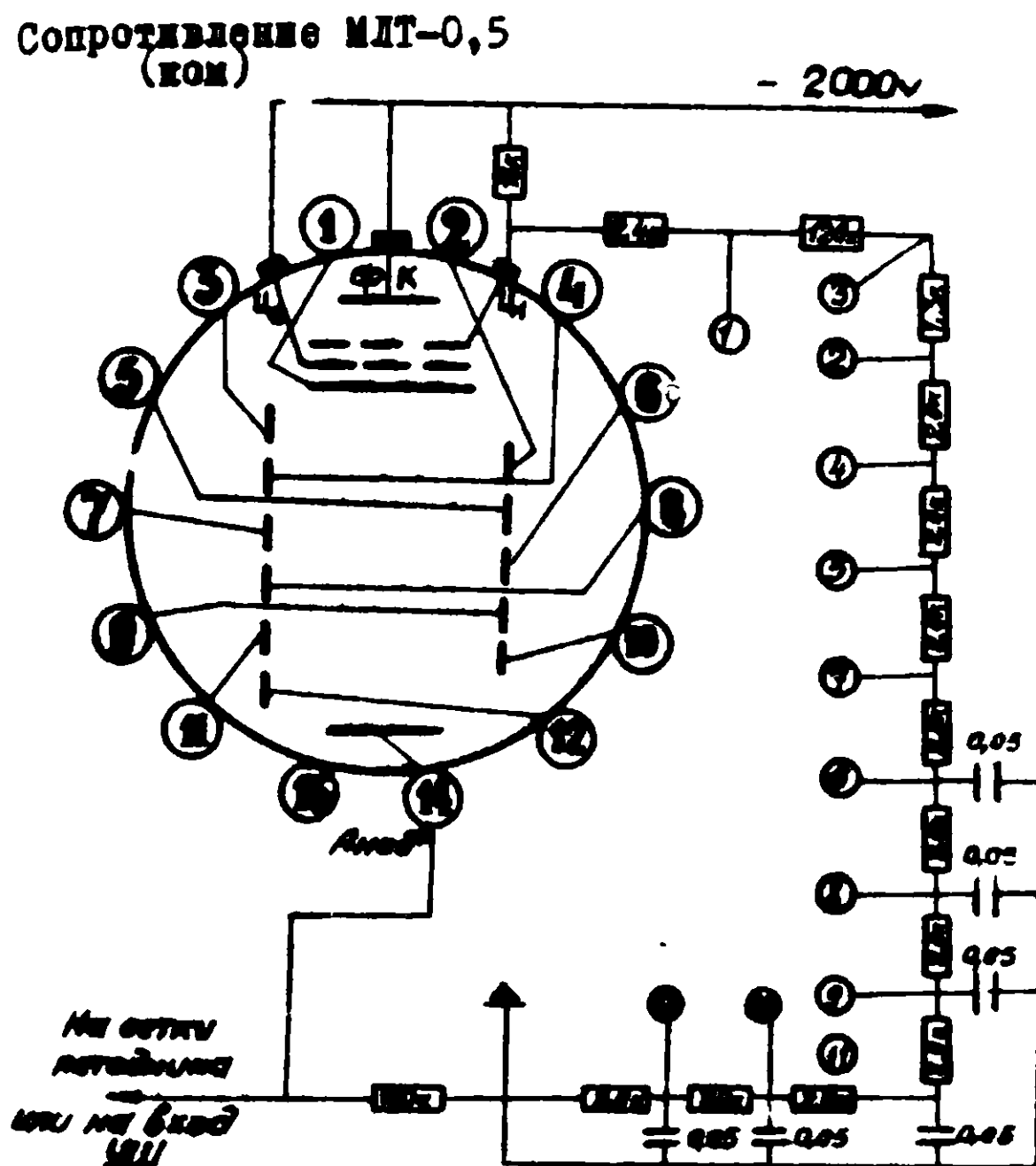


Рис. 7. Делитель на-
пряжения для РЭУ-1,
и схема его соот-
ветствия в установке
для измерений малых
световых потоков.

Установка, работающая в режиме счётчиков квантов, должна удовлетворять следующим требованиям:

Г. На фотозлектронный умножитель должно подаваться высокостабилизированное напряжение отрицательного знака. При работе с высоковольтным стабилизатором ВСВ-2 переключатель полярности должен находиться в положении "—", а при работе с ВС-22 переключатель полярности устанавливается в положение "Соединён с корпусом" (+).

2. Усилитель должен обладать высокой чувствительностью: высокоомным входом (порядка 10-100 Мом) и большим коэффициентом усиления импульсов (10^4-10^5).

3. Импульсы от фотоумножителя имеют отрицательный знак, а пересчетные схемы (счётная установка Б) рассчитаны на подсчёт положительных импульсов, поэтому в схему усиления включают каскад фазоинвертора. Интегратор скорости счёта ИСС-3 работает от импульсов обеих полярностей. Переключатель полярности устанавливают в положение "—".

4. Импульсы полезного сигнала и фона на выходе усилителя различаются по величине. Интерес представляют только импульсы, возникающие под действием тока, поэтому в схему вводят амплитудный дискриминатор, пропускающий только импульсы с амплитудой выше определенной регулируемой величины. Правильный подбор напряжения запирающей лампы амплитудного дискриминатора позволяет установить оптимальное отношение светового сигнала к темновому шуму. Широкополосный усилитель УШ-2 включался в схему с переключателем знака "Вход имп." в положении "+". Таким требованиям удовлетворяют широкополосные усилители.

5. Включение осциллографа до и после амплитудного дискриминатора позволяет следить за распределением импульсов по амплитуде и ее колебаниям и при изменении запирающей. Постоянное наблюдение за экраном осциллографа позволяет следить за правильностью работы установки и своевременно обнаружить неполадки в схеме.

На рис.5 представлена схема установки для исследований сверхслабых световых потоков. Предлагаемые конструкции [208] основаны на преобразовании сигналов, поступающих с ФЭУ в постоянный ток, и на его усилении при помощи электрометрического усилителя. Для усиления фототока используют электрометрические усилители ЭПВ-51, ЭПВ-60, ЭМУ-3, ЭМУ-4, а для записи сигнала - автоматические потенциометры ЭПП-09 или ПС-1. Постоянная времени в электрометрических усилителях задается емкостью, включаемой параллельно высокоомному входному сопротивлению. Порог чувствительности такой установки (СНК-7 ИХФ АН СССР) составляет 20-50 фотон/сек. для специально подобранных ФЭУ. Поскольку количество испускаемых квантов с увеличением объема реагирующей смеси возрастает, применяют реакторные сосуды больших размеров. Установка для измерения слабых световых потоков СНК-7 ИХФ АН СССР состоит из измерительной камеры и блоков электронной аппаратуры. Измерительная камера обеспечивает полную изоляцию всех проводимых в ней операций от внешних источников света. В ней помещается реакторный сосуд с исследуемой водой, который гибкими шлангами соединяется с ультратермостатом, баллонами с инертным газом, кислородом и резиновой грушей, с помощью которой производится вбрасывание реактивов в образец исследуемой воды. Внутри камеры устанавливается штатив для крепления реакторного сосуда и вбрасывателя, а также система сферических зеркал, которые позволяют сконцентрировать весь световой поток, излучаемый образцом на фотокатоде ФЭУ.

Образцы исследуемых вод и растворов (30 мл) помещаются в реакторный сосуд объемом 50 мл. Сосуд выполнен из стекла "Пирекс" и имеет двойные стенки в промежутках, между которыми циркулирует вода, поступающая из ультратермостата. Вбрасыватель представляет собой термостатированный стеклянный сосудик, соединенный шлифом с

реакционным сосудом. В него помещается 1-2 мл реактива. Вбрасыватель работал по типу прибора Сокслетта. Реактив, находящийся в нём, вытеснялся в реактивный сосуд воздухом, поступающим при нажатии груши.

Приёмником излучения служил фотоэлектронный умножитель ФЭУ-38, сигнал от которого после усиления регистрировался на диаграммной ленте самописца ЭПП-09. Питание ФЭУ осуществлялось высоковольтным стабилизатором ВС-22. Напряжение, подаваемое на ФЭУ, составляло 600 в. Скорость движения диаграммной ленты на самописце ЭПП-09 подбиралась в зависимости от скорости протекания изучаемой реакции. При изучении процессов, связанных с медленно изменяющейся интенсивностью люминесценции, она составляла 12 мм/мин. При быстром протекании реакции скорость записи достигала 480 мм/мин. Перед началом работы необходимо было прогревать аппаратуру в течение часа, т.к. в первый период после включения аппаратуры уровень её шумов оказался довольно значительным. Поскольку интенсивность хемилюминесценции в различных опытах резко колебалась, для уменьшения интенсивности светового потока, попадающего на фотокатод ФЭУ при регистрации очень яркого свечения, использовали диафрагмы диаметром 2,4 и 20 мм. Диаметр окна ФЭУ при полном открытии составлял 60 мм. При работе в измерительной камере, заполненной окислительной ячейки и вбрасывателя фотокатод ФЭУ защищался шторкой, так как попадание на него света выводит фотоэлектронный умножитель из строя.

Установка Института биологии внутренних вод АН СССР по конструкции была аналогичной СНК-7 ИХФ АН СССР. Её отличие состояло в следующем. Измерительная камера имела два отсека: измерение хемилюминесцентного образца; облучение образцов видимым и ультрафиолетовым светом. Во втором отсеке помещались источники света: ПРК-4 и БУВ-15. Между источниками излучения и кюветой для облучаемых образцов помещались светофильтры (3II, 365, 450 мкм), с помощью которых можно было облучать образец светом заданного участка спектра. После наступления необходимого времени облучения образец вбрасывали в кювету для измерения.

Описанные установки были использованы для моделирования различных световых, температурных, газовых режимов и для оценки их влияния на процессы превращения веществ в водоёме. Параметры температуры регистрировались в пределах $10-50^{\circ}\text{C} \pm 1,1$. Газовый режим изменялся путём подачи в реакционный сосуд кислорода, углекислоты, инертных газов.

Во всех опытах сохранялся следующий порядок работы. После прогрева аппаратуры в течение часа и заполнения окислительной ячейки и вбрасывателя в течение 3-5 минут записывали собственные шумы (фон) установки. Затем регистрировали интенсивность хемилюминесценции во-

ды в данных условиях и её изменения после вбрасывания катализатора, инициатора или ингибитора реакции. После окончания измерения опять записывали собственные пумы установки, значения которых вычитали из данных интенсивности. И.И. Сапегинский [146] предложил два варианта установок для изучения фотохемилюминесценции растворов органических соединений. Установка состоит из термостатируемой кюветы, в которой облучается раствор. Кювета полиэтиленовыми трубками диаметром 1,5–2 мм соединена с сосудом, расположенным вблизи фотокатода торцового фотоумножителя.

Электронная часть установки состоит из высоковольтного стабилизатора (BC-9, BC-16, СВВ-10) для питания фотоэлектронного умножителя, фототок умножителя подаётся на усилитель постоянного тока. Кривые изменения интенсивности фотохемилюминесценции записывались с помощью высокоомного потенциометра ЭППВ-60. Варианты установки отличались схемой движения раствора между кюветой для облучения и сосудом, в котором производилось измерение фотохемилюминесценции. В первом варианте осуществлялось возвратно-поступательное движение раствора. Шприцем раствор после облучения засасывался в сосуд для измерения и после определения интенсивности свечения нагнетался обратно в кювету для облучения. Во втором варианте установки осуществлялось непрерывное движение жидкости с помощью циркуляционного насоса. Поток жидкости проходил через кювету, в которой облучался, а затем в сосуд перед ФЭУ. Непрерывная циркуляция жидкости в замкнутой системе позволяла осуществить постоянную регистрацию изменения параметров хемилюминесценции во всём объёме (20 мл) раствора.

К специальным установкам и конструкциям относятся приборы для регистрации электрохемилюминесценции [15, 38]. Явление электрохемилюминесценции используется для обнаружения в биологических и водных средах антиоксидантов, продуцирование которых связано с жизнедеятельностью организмов [62, 69].

Г л а в а Ш

ЛУМИНЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА ПРИРОДНЫХ ВОД И АНАЛИЗ ОТДЕЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Довольно длительное время гидрохимия изучала природные воды, как растворы химических веществ. До сих пор ещё анализ химического состава природных вод заключается в определении количества растворённых газов, солей и элементов. Вместе с тем главное отличие природной воды от водных растворов химических веществ состоит в том, что природная вода представляет собой среду обитания многочисленных растительных и животных организмов. Живые организмы как открытые, саморегулирующиеся и самовоспроизводящиеся сис-

темы непрерывно обмениваются с водной средой веществом и энергией. Многочисленные обратные связи, существующие между организмами и средой, обеспечивают высокую степень регуляции физико-химических и биологических процессов внутри гидросферы.

Анализ соединений, связанных с жизнью в водоёме, затруднён тем обстоятельством, что продукты обмена составляют не более 0,05-0,001% от общего содержания минеральных и органических веществ в природной воде. Несмотря на это, вновь разрабатываемые методы определения соединений, содержащихся в водах, в значительной своей степени связаны с биохимическим анализом воды [249, 308]. Эти методы позволяют получить информацию о природе связи организмов со средой обитания, о роли и превращениях веществ, выделяемых в воду.

Разнообразны взаимодействия и реакции, протекающие в природных водах и сопровождающиеся излучением света. В качестве необычного примера возникновения радиолуминесценции в воде отметим следующее явление, описанное В.П. Казначеевым, М. С. Набулиным, Е.Ф.Чернявским [75]. Авторы обнаружили, что радоновые воды излучают потоки ультрафиолетовых лучей высокой биологической активности, по своему характеру относящиеся к митогенетическому излучению. Эти лучи были обнаружены с помощью биологических детекторов. При их воздействии увеличивалось число почкований дрожжевых клеток. Коротковолновое ультрафиолетовое излучение не обнаруживалось в искусственно приготовленной радоновой воде. Но оно возникало при прибавлении к радоновой воде солей кобальта. Можно перечислить следующие основные виды люминесценции водной среды (биоигдросферы): фотолуминесценция собственно воды, находящейся в различных агрегатных состояниях; фотолуминесценция дисперсной фазы (взвесей и молекулярных агрегатов); флюоресценция растворенных в воде сложных органических соединений; флюоресценция организмов; флюоресценция соединений промышленного синтеза; специальные виды люминесценции (фотохемилюминесценция, электро-, радиолуминесценция, биолуминесценция и т.д.).

Из этого перечисления видно, что в воде происходят многочисленные реакции, сопровождающиеся излучением света, хотя в результате взаимодействия энергии с веществом только небольшой процент (0,5-6-8%) её переходит в свет.

Флюоресцирующие вещества природной водной среды

Содержание флюоресцирующих веществ в морях и водоёмах сумм меньше суммарного количества органических веществ, поскольку большее число органических соединений простого строения не флюоресцирует. Изучено несколько групп веществ вод, способных флюоресциро-

вать: неокрашенные органические вещества – метаболиты [271]; растительные пигменты [8, 148]; окрашенные вещества почвы; мертвые остатки продуктов жизнедеятельности организмов – битумоиды [158, 165, 296]. Органические вещества, образующиеся в результате жизнедеятельности водных организмов, объединяются в группу нестойких соединений. Это продукты выделения и остатков организмов: углеводы, пигменты, аминокислоты, белки, ферменты, гормоны. В водоёме они выполняют различные функции: трофическую и регуляторную. Вещества этой группы также называют биосинтетиками или внешними метаболитами, так как благодаря присутствию в природной воде этих соединений она становится средой, благоприятной для жизни. Соединения этой группы (белки, нуклеозидтрифосфаты, ферменты) могут быть использованы в осуществлении жизненно важных биосинтетических реакций организмов.

Примечательно, что все основные биологически важные соединения, с помощью которых осуществляется жизнь, построены из молекул, активно поглощающих фотоны ультрафиолетового излучения спектральной области 240–290 нм (Камшилов, 1965)*. Измерение степени поглощения в ультрафиолете используется для суждения о концентрации внешних метаболитов в водной среде и загрязнений [198, 199, 285, 293, 260]. Однако преобладающей частью органики морей, крупных озёр и водохранилищ служит не "живое" вещество, а внесённый извне ("терригенный гумус") и новообразованный комплекс органических соединений ("водный гумус"), характеризующихся высокой устойчивостью к бактериальному воздействию и факторам внешней среды. Источником образования водного гумуса служит планктон. Значительные количества органических веществ выделяют водоросли [135, 297].

До сих пор с помощью люминесцентного метода изучаются вещества природных вод, флуоресцирующие в видимой области спектра. Вместе с тем известен целый ряд соединений, например, ароматические аминокислоты, оксисоединения ароматического ряда, ароматические сложные эфиры, флуоресцирующие в ультрафиолетовой области спектра. Но исследования природных веществ, выделенных из воды и способных флуоресцировать в ультрафиолетовой области, пока отсутствуют. Большая группа природных флуоресцирующих веществ извлекается из воды органическими растворителями: серным эфиром, бензолом, четыреххлористым углеродом, хлороформом. К этой группе веществ прежде всего относятся природные битумоиды, нафеновые кислоты [23].

Образование битумоидов – один из процессов, при котором элементы "живого вещества", появляющиеся в водной среде и в донных отложениях, в процессе минерализации вовлекаются в построение новых более устойчивых соединений [13, 19, 28, 133].

Природные битумоиды представляют собой аналитические аналоги жиров (липидов) и жироподобных веществ липоидов [28]. Японские хи-

мики называют битумоиды современных осадков "липоидной фракцией". Битумоиды довольно устойчивы к биохимическому окислению, плохо растворимы в холодной воде и хорошо растворимы в хлороформе и других органических растворителях. В воде они находятся в диспергированном состоянии, частично связаны с осадками. Битумоиды разделяются на фракции асфальтенов, смол, масел. Они обладают специфической люминесценцией, характер которой зависит от их происхождения и степени восстановления [165].

Происхождение гумусовых веществ [233-236] связано с источниками их образования (имеются в виду гумус почв, гумус воды и гумус, образующийся в атмосфере). Известную роль в формировании гумуса поверхностных вод играют воднорастворимые органические вещества растительных остатков [35], в частности, таниды [81].

Люминесцентные свойства наиболее простых окрашенных соединений — меланоидинов, имеющие более низкую стадию полимеризации, по сравнению с гумусовыми веществами, отличаются от последних по цвету и яркости свечения [108-110]. Калле считает, что меланоидины служат одним из источников люминесцирующего вещества моря [258, 262]. Простейшие меланоидины люминесцируют голубым цветом. Их образование протекает по типу реакции Мейларда, которая представляет собой природный синтез окрашенных продуктов в результате полимеризации углеводов при участии соединений, содержащих азот [258], в частности аминокислот или иона аммония [114, 297]. Источником образования флуоресцирующих веществ могут служить также гистидин, кинкодол, аргинин, глутаминовая кислота, триптофан. Процесс протекает в щелочной среде. В модельных опытах было установлено, что ярко флуоресцирующие вещества образуются и без участия аминокислот, например, в реакции метилглиоксала с поташью в водной среде. Образование меланоидинов Калле рассматривает как фактор широкого геохимического значения. Он считает, что меланоидины могут образовываться в атмосфере, а материалом для их образования служат вещества аэрозолей. В водоёмы меланоидины попадают с атмосферными осадками. Яркость люминесценции морских вод из разных районов мирового океана испытывает значительные колебания, но цвет люминесценции и максимум свечения (465 мкм) остаются очень близкими даже для образцов вод, отобранных в очень далеко отстоящих друг от друга географических пунктах. Это обстоятельство свидетельствует о том, что в образовании основной группы веществ, с которыми связана флуоресценция морских вод, участвует единый широко распространенный процесс.

Флуоресцирующие соединения при взаимодействии углеводов и аминокислот получил С.В. Люцарев [109]. Максимум их флуоресценции — 450 мкм — подобен спектру флуоресценции морской воды, имеющей максимум 463 мкм. Для флуорогенов, образованных взаимодействием

глюкозы и лигнина, спектр возбуждения флуоресценции имеет максимум спектра 390 мкм, а максимум спектра возбуждения морских вод — 370 мкм. Соединения типа меланоидинов не экстрагируются в слой этилуксуснокислого эфира из щелочного или кислого раствора. С.В. Люцкев выделил еще одну группу флуоресцирующих соединений морской воды. Они обладают свойствами органических кислот и в молекулярной форме способны экстрагироваться в слой этилуксуснокислого эфира. Их концентрация равновесна с общим содержанием флуоресцирующих веществ. В то же время автор отмечает, что интенсивность флуоресценции вод внутренних морей не равновесна с содержанием в них органического углерода.

Люминесценция дисперсной фазы

Свечение природных вод отличается от люминесценции растворов химических веществ своей неоднородностью. Невооруженным глазом легко наблюдать, что некоторая часть люминесцирующего вещества находится в воде в диспергированном состоянии в виде мельчайшей светящейся взвеси. После фильтрации через фильтр с размерами пор 0,7–0,9 мк число светящихся частиц уменьшается и интенсивность флуоресценции падает, однако часть светящейся взвеси остаётся даже после фильтрации через плотные мембранные фильтры. Яркость и цветовой оттенок светящейся взвеси отличаются от остального фона воды (дисперсионной среды). Частицы имеют более яркое свечение, по сравнению с самой водой.

По наблюдениям Синельникова (1960, 1966)[†], в природных водах открытых водоёмов с не очень высокой цветностью (30–50°) эффект "светящейся пыли" выражен более чётко, чем в подземных и питьевых водах. Аналогичный характер имела люминесценция раствора фульвокислоты. Светящаяся взвесь в значительной степени устранялась фильтрацией воды через бариевый фильтр. При этом в известной мере снижалась и цветность воды (табл. 8). Вода профильтровывалась через мембранный фильтр № 4, покрытый слоем сернокислого бария толщиной 3 мм. Таким образом задерживалось от 40 до 80% окрашенного органического вещества. При расчёте интенсивности флуоресценции, приходящейся на общее содержание окрашенных веществ (по цветности), оказалось, что веществами, с которыми связана флуоресценция, обуславливается до 90% от общей интенсивности свечения. Необходимо учесть, что пробы отобраны в зимний период, когда органических веществ, связанных с жизнедеятельностью организмов в воде, содержалось минимальное количество.

Органическое вещество, осевшее на бариевом фильтре, наносилось на полоску хроматографической бумаги для его разделения с помощью электрофореза (напряжение 150в, сила тока 15 ма). Электрофо-

рез проводился на приборе ЭФА-1 в фосфатном растворе при pH 8,5, время электрофореза – 1 час. В результате выделена окрашенная, люминесцировавшая желтовато-зелёным цветом, зона. Она имела отрицательный заряд. Более яркую люминесценцию частиц можно объяснить

Таблица 8

Изменение цветности и люминесценции вод Угличского водохранилища (25–26 февраля 1963 г.) после фильтрации через бариевый фильтр

Образец	Горизонт	До фильтрации		После фильтрации		% от общего количества окрашенного органического вещества, задержанного фильтром
		Цветность в градусах	Интенсивность флуоресценции в усл.ед.	Цветность в градусах	Интенсивность флуоресценции в усл.ед.	
Углич	Поверхность (дно)	55	136	30	87	45,5
		55	140	10	42	81,9
Прилуки	Поверхность (дно)	55	132	20	52	63,8
		53	130	10	38	80,0
Калязин	Поверхность (дно)	50	130	12	41	76,0
		55	138	10	43	81,9
Кимры	Поверхность (дно)	45	126	15	45	66,7
		50	130	30	81	40,0

тем, что люминесцирующие молекулы в них закреплены более жестко, чем в растворе. Пространственное расположение молекул, образующих агрегаты, в значительной мере сказывается на эффекте люминесценции, [92]. Так, козеин в гранулах флуоресцирует примерно в два раза ярче, чем в растворе. Протеин в водном растворе почти не флуоресцирует, но, будучи адсорбированным на бумаге, начинает светиться весьма ярко. Происхождение частиц связано с коллоидами окрашенного вещества, скоплением бактерий, детритом, а также с органическими агрегатами, образующимися в результате флоатации соединений пузырьками воздуха с участием бактерий (табл. 8).

Размер частиц, которыми обусловлен эффект "светящейся взвеси", лежит в пределах от 0,01 до 1 мк. Размер пор (бариевого) фильтра, который полностью задерживает "светящуюся взвесь", – около 10 мкм [170]. Более крупные частицы терригенного происхождения и клетки зоо-фитопланктона задерживаются фильтрами № 6–4. Их характер

свечения отличен от "светящейся взвеси". Терригенная взвесь не светится и снижает интенсивность флуоресценции природных вод, подавляет эффект "светящейся взвеси". Детрит и клетки зоо-фитопланктона имеют иной характер флуоресценции. По наблюдениям В.Е. Синеельникова во время массового цветения в июле 1963 г. на оз.Реро взвешенные частицы на мембранном фильтре имели красно-бурую, голубую (планктон) окраску, желто-коричневый цвет (гумусовые частицы) свечения, частицы детрита под люминесцентным микроскопом имели желтый и сине-голубой цвет.

Таблица 9

Характер и размеры взвешенных частиц природных вод

Характер активных центров	Размеры частиц в микронах
Суспензии и эмульсии	0,1
Коллоидные растворы	0,001-0,1
Размеры частиц окрашенного вещества природных вод	0,0035-0,01 (3,5-4,8)
Размеры бактерий (мк ³)	
Кокки	0,51
Палочки	1,56
Дрожжевые клетки	91,58
Скопления бактерий	10-100
Органические агрегаты	0,45-0,6
Взвеси	0,9-1,2

При смачивании фильтра водой яркость свечения частиц уменьшалась. При смачивании хлороформом разгоралось яркое красное свечение веществ, представляющих собой разложившиеся остатки, экстрагируемые органическими растворителями. Остатки микро- и макрофитов (ксантофиллы и др. пигменты) светились желтым цветом (возбуждение линией ртути 405 мкм). Биомасса фитопланктона, по данным А.Д. Ильинского, в это время была очень высокой и составляла 11,3 мг/л.

Частицы, обуславливающие эффект "светящейся взвеси", отличаются не только размерами и характером свечения. Их можно обнаружить с помощью красителей, которые флуоресцируют лишь в адсорбированном состоянии. Пример такого красителя - псевдоизоцианинхлорид.

Люминесценция, связанная с водными организмами и их жизнедеятельностью

Водные экстракты из растёртых водорослей флуоресцируют тёмно-синим цветом [187]. При разрушении сине-зелёных водорослей, в большом количестве накапливающихся в водоёмах на завершающем этапе "цветения", образуется ярко-синяя жидкость, флуоресцирующая красным цветом. Один из основных источников флуоресценции этой жидкости — фикобилиновые пигменты. Цвет жидкости и её флуоресценция зависят от состояния белкового носителя. Нарушение его какими-либо воздействиями.. (изменение pH-среды) изменяет окраску раствора и гасит флуоресценцию. Сиренко с соавторами [169] установила, что "синяя" жидкость образуется в результате выхода из клеток водорослей водорастворимых биллихромопротеинов, связанного с белком фикоцианина и его производных. Основной максимум в их спектре поглощения лежит в области 610–630 мкм. Он может сдвигаться в пределах 10–12 мкм. Сами же клетки в своей массе механически не нарушаются. Хранение "синей" жидкости при 20–22° сопровождается её значительным обесцвечиванием, уменьшением интенсивности флуоресценции и снижением водорастворимых белков, по-видимому, в результате ферментативного гидролиза и микробиологического разрушения. Изменение интенсивности флуоресценции водных масс при одинаковой цветности воды может быть связано с выходом пигментно-белкового комплекса, флуоресценция которого накладывается на флуоресценцию, обусловленную гумусовыми веществами.

Собственное свечение водорослей предлагают использовать для различения живых и мёртвых клеток [130]. Однако же практически более часто используют для этой цели окраску клеток водорослей флуорохромами [17]. Б.И. Осетров [130] сообщает, что использование для определения жизнеспособности флуорохромов пока не даёт чётких результатов даже в тех случаях, когда интерпретация окрашиваемых структур наиболее достоверна, например, при флуорохромировании акридиноранжем нуклеиновых кислот. Два теста предлагает автор при оценке угнетающего и токсического действия ионов тяжёлых металлов и их комплексов с различными органическими соединениями: исследование нативной флуоресценции клеток и обесцвечивание индиго. Флуоресцентный тест оказался менее пригодным, так как металлы и их органические соединения вызывают возбуждение или гашение флуоресценции, искажая характер свечения самих клеток. Флуоресцирующие вещества, связанные с присутствием в воде земного запаса, продуцируют грибки [16]. Известное количество флуоресцирующих веществ выделяется микроорганизмами [136].

Люминесцентные свойства органического вещества почвы

Люминесцентные свойства вод, связанные с окрашенным органическим веществом, зависят от типа почв, качественного и количественного состава в них гумуса [233-235]. Из почвы различными растворителями извлекаются два типа флуоресцирующих веществ. Органические растворители (хлороформ, бензол, эфир) извлекают вещества типа битумоидов. Они флуоресцируют голубовато-белым цветом. Это свечение пропорционально количеству органического вещества, содержащегося в образце. После прибавления незначительного количества минеральных кислот свечение резко ослабевало. В спиртовом растворе флуоресцирующие вещества типа восков обнаруживались при разбавлении 1:500000. Битумоиды содержатся не только в почве, но и в торфе, угле, сапропелях.

Гумусовые вещества, извлекаемые щелочными растворами и плохо растворимые в чистой воде, флуоресцируют золотисто-жёлтым цветом. Их минимальная концентрация в растворе обнаруживалась при его разбавлении до 1:10⁶. Свечение гумусовых веществ, углей и торфа появлялось только после обработки их растворителями (HCl, KOH). В природных образованиях они не флуоресцировали. В отличие от зелёно-жёлтой флуоресценции гумусовых веществ было установлено свечение веществ, извлекаемых хлороформом. В ряду гумусовых образований флуоресценция затухает в сторону более высокоуглеродистых веществ. С помощью спиртобензола люминесцирующие вещества легко извлекались из торфа, а извлечение их из бурых и каменных углей потребовало предварительной обработки HNO₃. В антраците и метаморфическом графите люминесценция вообще отсутствовала.

Характерное для гумусовых веществ свечение жёлтого цвета обнаружил в водных вытяжках из засоленных почв С.А. Владыкин [32]. Происхождение этого свечения стоит в прямой связи с водорастворимыми фракциями гумусовых веществ. По наблюдениям автора, вытяжки из кислых (подзол, краснозём) и нейтральных (чернозём) почв практически не флуоресцировали, что весьма сомнительно. Свечение было характерно для вытяжек, насыщенных обменным натрием и имевших щелочную реакцию.

М.С. Курбатов и В.Е. Синельников [102] исследовали водные вытяжки из солонцеватых, солончаковых и незасоленных почв Киргизии. Водные вытяжки готовились при соотношении почвы и дистиллированной воды 1:5 с последующим разбавлением в 50 раз для устранения концентрационного тушения, отмечавшегося в большинстве неразведенных вытяжек. Мутные вытяжки освобождались от взвеси центрифугированием.

Интенсивность и цвет люминесценции вытяжек были связаны с насыщенностью почвы поглощенным натрием, гумусностью почвы и общей щелочностью вытяжки (табл. 10).

Как видно из материалов таблицы, по яркости люминесценции представляется возможность в пределах обследуемого района судить о содержании гумуса в почве. Общая для всех образцов корреляция между данными валового анализа по Тюрину и яркостью свечения отсутствовала.

В наших опытах выявилась определенная взаимосвязь между визуальной характеристикой люминесценции и некоторыми физико-химическими свойствами почв. Оказалось, что коричневое и жёлтое свечение характерно для образцов, содержащих значительное количество подвижных гуматов натрия. Методом электрофореза на бумаге воднорастворимые органические вещества содовосолончаковой почвы были разделены на отдельные фракции. Зоны свечения при движении к катоду распределились следующим образом:

- а) нелюминесцирующая (чёрная) неподвижная зона гуминовой кислоты;
- б) коричнево-красная слабоподвижная зона;
- в) жёлтые (несколько зон различной подвижности) — фульвокислоты;
- г) ярко-голубая, при дневном свете бесцветная зона, наиболее подвижная (рН фосфатного буфера — 8,6).

Авторы предполагают, что цвет люминесценции зон зависит от характера катионов и анионной части соединения. Голубое свечение, по-видимому, обусловлено гуматами кальция и магния. Это подтвердилось следующим опытом: образец содового солончака, водная вытяжка которого обладала интенсивным коричневым свечением, промывали раствором хлористого кальция с целью замещения поглощенного натрия кальцием. При этом свечение промывных вод менялось от коричневого к жёлтому, а затем к голубому цвету. Голубое свечение появилось после полного замещения обменного натрия кальцием.

М.М. Кононова, Н.П. Бельчикова, В.Н. Никифорова (1958)^ж в результате разделения гуминовых кислот чернозёма, дерново-подзолистой почвы и фульвокислот на хроматографических колонках из крахмала и окиси алюминия показали сложность и неоднородность их состава. Жёлтая и жёлто-зелёная люминесценция обнаружена у менее окрашенных фракций.

При изучении фракционного состава гуминовых и фульвокислот почв с помощью хроматографии и электрофореза на бумаге (Кононова, 1963)^ж окрашенные органические вещества были разделены на три зоны: А — остающаяся на месте нанесения вещества, Б — промежуточная, В — периферическая, флуоресцирующая. Определением оптической плотности выделенных фракций было установлено, что в гуминовых кисло-

Таблица 10

Интенсивность свечения водных вытяжек из различных почв

Глубина забора образца	Содержание гумусов		Водная вытяжка			Поглощенный натрий в % от влажности поглощения	рН водной суспен- зии	Данные флуорометрии		
	Валовой по Тюрину	Вычислен по данным лю- минесценции	Сухой ос- тазок в %	Щелочность в %				555	541	478
				CO ₂	HCO ₃					
0-8	1,20	1,10	1,060	0,097	0,634	59,4	9,06	210	185	3340
8-16	1,00	1,54	0,540	0,045	0,305	64,2	9,21	200	180	2300
50-60	0,92	1,07	0,510	0,036	0,292	51,5	9,00	122	105	1615
80-90	0,88	0,79	0,263	0,022	0,121	не опреде- лен	8,92	95	90	1100
140-160	не опре- делен	0,37	0,137	0,004	0,072	не опреде- лен	8,81	48	42	565

тах на почв чернозёмного типа преобладают фракции с высокой оптической плотностью, а на подзолистых почв и красновёмов — фракции с низкой оптической плотностью, флуоресцирующие характерным для фульвокислот цветом.

Макен [257] дал описание цвета люминесценции отдельных фракций гумусовых веществ почв после разделения их с помощью электрофореза на бумаге. Бесцветная фракция люминесцировала бледно-голубым цветом, слабоокрашенные фракции имели цвет люминесценции от розового до жёлто-оранжевого. Тёмно-бурая гуминовая кислота не люминесцировала. Автор связывает подвижность фракций при электрофорезе и цвет их люминесценции со степенью полимеризованности гуминовых кислот.

Используя люминесцентный микроскоп, Паули (1967)^ж наблюдал последовательные стадии превращения растительных остатков в гумусовые частицы. Растительные остатки (стебли соломы) ярко люминесцировали голубым и зеленоватым цветом. Постепенно цвет их изменялся от жёлтого к коричневому. Гумусовые частицы в поле зрения люминесцентного микроскопа выглядели или тёмно-коричневыми или чёрными.

В дальнейшем автор использовал люминесцентный метод в сочетании с другими физико-химическими методами для изучения природы гумусовых веществ и того исходного материала (целлюлозы, гемицеллюлозы, пектиновых веществ, лигнина), из которого они образуются. Приведенные исследования позволили установить, что степень конденсированности молекул, их оптическая плотность и свечение гумусовых веществ вод отличается от флуоресценции гумуса почвы тем, что из почвы в воду переходят только фракции гумуса более простого строения. На некоторые свойства водного гумуса указывают Шевченко и соавторы [203].

В работах В.Е. Синельникова [161, 162] показаны некоторые различительные признаки люминесцентных свойств гумусовых веществ почвы и гумусовых веществ вод. Окрашенность и число фракций гумусовых веществ, выделенных на полоске хроматографической бумаги связано со степенью цветности вод. При концентрировании окрашенных органических веществ в зоне капиллярного поднятия из сильно окрашенных вод (цветность 60–100° и более) гумусовые вещества представлены фракциями фульвокислоты с высокой оптической плотностью, для которых характерна чёрная — тёмно-коричневая окраска.

Несколько типов окрашенных веществ было выделено из вод чистых участков Москвы-реки [161]. Люминесцентная характеристика их представлена в табл. II.

Люминесцентная характеристика окрашенного органического
вещества чистых участков р. Москвы (1965)

Место отбо- ра пробы	Цвет- ность, гра- ду- сы	Цвет зоны капиллярного подня- тия		Количество веществ в мг на одно деле- ние шкалы флуорометра
		При дневном освещении	Люминесценция	
Выше Звени- города	60	Светло-ко- ричневый	Тёмно-корич- невый	0,005
Ниже Звени- города	60	—" —"	Коричневый	0,006
			Оранжево-жёл- тый	0,003
Канал им.Моск- вы, 7-8 плуэ	45	Жёлтый	Оранжево-жёл- тый	0,0015
Дукино	55	Жёлто-ко- ричневый	Коричневый	0,0025
			Оранжево-жёл- тый	0,003

Люминесцентная характеристика окрашенных органических ве-
ществ чистых участков р. Москвы приведена по данным исследований
в июле 1965 и в октябре 1966 гг. Эти два года значительно отлича-
лись по водности: 1965 г. был маловодным, 1966 — многоводным.
Благодаря весьма значительным поступлениям вод во время снеготая-
ния в водохранилищах верховья р. Москвы в 1966 г. в течение всего
меженного периода сохранялся высокий уровень (на 1,5 м выше обыч-
ного). Цветность вод верховьев р. Москвы в 1966 г. была более чем
в два раза ниже, чем в 1965 г.

Из приведенных в таблицах II и I2 данных видно, что характер
органического вещества вод р. Москвы у Звенигорода (1965) отлича-
ется от окрашенных веществ, выделенных из вод Можайского и Истрин-
ского водохранилищ. Они характеризуют различную степень гумифика-
ции органического вещества. Слабоокрашенные или бесцветные фрак-
ции, люминесцирующие белым и голубым цветом, отнесены нами к "свет-
лому" гумусу, который характеризует начальную степень гумификации
органического вещества. Тёмный гумус по оптическим свойствам бли-
зок к фульвокислоте.

Относительное содержание отдельных фракций гумуса было опре-
делено в воде Черёмуховского водохранилища. Люминесцентная характе-
ристика выделенного в зоне капиллярного поднятия органического ве-

щества сопоставлена с содержанием в воде органического углерода и окисляемости.

Таблица 12

Люминесцентная характеристика окрашенных органических веществ верховья р. Москвы (1966)

Место отбора пробы	Цветность, градусы	Цвет зоны капиллярного поднятия		Количество вещества на 1 деление шкалы флуорометра	Количество окрашенного органического вещества в мг/л
		При дневном освещении	Люминесценция		
Можайское водохранилище	25	Бледно-жёлтый	Бело-голубой	0,001	10,33
Истринское водохранилище	20	Бледно-жёлтый	Бело-голубой	0,0005	8,75

На основании уменьшения отношения $\frac{\text{цветность}}{\text{С органически}}$ в фильтрованных через слой бария водах, а также несоответствия между убылью цветности и других показателей органического вещества Б.А.Скопинцев и А.Г.Бакулина [170] пришли к выводу, что в окрашенных водах Череповецкого водохранилища в год его заполнения имеется немалое количество неокрашенных или малоокрашенных растворимых органических соединений. Органическое вещество Череповецкого водохранилища имело весьма высокую яркость люминесценции, которая увеличивалась от оз. Белого к предплотинной части.

При концентрировании в зоне капиллярного поднятия на бумаге было выяснено, что оно состояло из нескольких фракций: а) бесцветной фракции, люминесцировавшей сине-голубым или бело-голубым цветом; б) "светлого" гумуса; в) "тёмного" гумуса.

Приведенные соотношения фракции "тёмного" и "светлого" гумуса подтверждают выводы Б.А. Скопинцева и А.Г. Бакулиной о том, что органические вещества вод Череповецкого водохранилища состоят из бесцветных или слабоокрашенных фракций. Повышение содержания органического вещества по окисляемости и органическому углероду не сопровождалось увеличением тёмноокрашенной фракции. На участке водохранилища Ниловицы - Черная Гряда относительное содержание "тёмного" гумуса оказалось на 1-2% ниже, чем в оз. Белом и Горадах. Оора-

тила на себя внимание также более высокая яркость свечения воды в слое, лишенном кислорода. Вероятно, здесь сказываются восстановительные условия среды и отсутствие туманного влияния кислорода. Фракция "светлого" гумуса оказалась преобладающей не только в водах Череповецкого водохранилища, но и в других водохранилищах верхней Волги, обследованных В.Е. Синельниковым. В табл. 14 представлены данные о компонентном составе органического вещества Горьковского водохранилища.

Таблица 13

Цветность (в градусах), органический углерод (в мг С/л), окисляемость перманганатная и бихроматная (в мг О/л) (данные Скопинцева, Бакулиной [170]) и люминесцентная характеристика вод Череповецкого водохранилища в первый год его заполнения

Пункты	Глубина в метрах	Цветность в градусах	Углерод органический	Окисляемость мг/л O ₂		Соотношение фракций гумуса в %	
				Перманганатная	Бихроматная	Светлый гумус	Тёмный гумус
оз. Белое	0,5	45	7,7	7,79	25,8	90,7	9,3
Горицы	0,5	45	10,7	10,0	26,6	88,6	11,4
Няловцы	0,5	—	12,4	14,1	36,2	91,4	8,6
	9,5	—	17,5	23,4	61,4	90,7	9,3
Чёрная гряда	0,5	55	10,9	12,2	31,8	92,8	7,2
	5,1	70	13,7	14,4	33,9	91,6	8,4
Кургай	0,5	45	13,0	12,2	32,3	90,9	9,1
	15,0	55	12,7	17,6	47,2	90,3	9,7

Во всех исследованиях воды преобладают фракции "светлого" гумуса. Содержание "тёмного" гумуса в Горьковском водохранилище несколько растёт к его предплотинной части. Окрашенные фракции органического вещества вод р. Оки у Дзержинска представлены "светлым" гумусом. Фракция "тёмного" гумуса обнаружена в воде р. Оки в виде очень слаболюминесцирующей зонки на фильтровальной бумаге после эликации основного вещества. При определении на флуорометре её свечение близко к люминесценции контрольного определения. Довольно высок процент содержания "тёмного" гумуса в водах рек болотного плато Урала в Мочи. Эти и другие притоки, впадающие в Волгу в районе Горьковского водохранилища, служат одной из причин относительно высокого содержания в его водах окрашенной компоненты органических соединений, в частности, тёмного гумуса. В предплотин-

Таблица 14

Компонентный состав не изменяемого хлороформом органического вещества вод р. Волги на участке Рыбинск-Горький и р. Оки в районе Дзержинска (август 1965 г.)

Место отбора пробы	Глубина на реке в м	Глубина на взятии пробы (в м)	Цветность (в градусах)	Длительность экспозиции в усл. единицах (по поднятию)	Содержание веществ, нерастворимых в этаноле (в %)	Содержание спирторастворимых веществ (в %)	Относительное содержание окрашенных веществ (в %)	
							светлые	темные
Волга у р. Ить	7,5	3,0	70	155	СВК	84	95,0	5,0
Сеземский о-в	8,0	3,0	60	130	б, СВК, СВК	78	93,8	6,8
Нижне Костромь	13,0	5,5	75	165	ЖК	80	90,7	9,3
Плещ	15,0	6,0	70	165	СВК, К	82	92,4	7,6
Нижне Кинешемь	13,0	5,0	65	155	ЖК	80	91,7	8,3
Верхний бьеф Горьковской ГЭС	15,00	6,0	80	180	ЖК, К	77	81,5	18,5
Зименки	9,5	4,0	90	155	СВК, К	76	87,7	12,3
р. Унжа	7,0	2,8	150	230	Ж, СВК, К	87	81,7	18,3
р. Моча	2,5	1,0	190	240	Ж, СВК, К	89	82,0	18,0
Ока - 5 км выше Дзержинска	3,0	1,5	55	165	СВК, бГ	83	ОКОЛО 100,0	ОЖЕДЫ
Новики	3,0	1,5	60	150	СВК, Г, бГ	92	ОКОЛО 100,0	СЛЕДЫ

Наименование веществ: б - белая, бГ - бело-голубоватая, ЖК - желто-коричневая, СВК - светло-желтая, СВК - светло-коричневая, Г - голубая, Ж - желтая, К - коричневая.

ной части Горьковского водохранилища содержание спирторастворимых веществ возрастает до 20%. Концентрация этих веществ в воде р. Оны также относительно велика (21–23%). Определение соотношения между "светлым" и "тёмным" гумусом используется в изучении изменения окраски водных масс. Эта окраска, в свою очередь служит показателем трансформации водных масс [24, 195].

Люминесценция природных вод различных географических районов

Для того, чтобы выявить влияние климато-географических условий площади водосбора на формирование люминесцентных свойств вод открытых водоёмов, были проведены наблюдения на реках, озёрах и водохранилищах на территории с жарким климатом и в умеренной лесной зоне.

Люминесцентные свойства вод водоёмов, расположенных в условиях жаркого климата

Район среднего течения р. Чу расположен во Фрунзенской области, на севере Киргизской республики. С северных отрогов гор Киргизского Алатау в долину р. Чу в поперечном направлении стекает большое количество рек: Аламедин, Аларча, Иссык-Ата, Ак-Су и др. Эти реки горного происхождения. Режим их связан с таянием снегов в горах. Воды этих рек отличаются небольшой цветностью, высокой прозрачностью, малой минерализацией. Содержание органических веществ в них как по окисляемости, так и по БПК₅ незначительно (Синельников, 1960)*).

Быстрое бурное течение, небольшая глубина, валуно-галечниковое дно создают благоприятные условия для обогащения воды кислородом и для интенсивных процессов самоочищения. Изменение яркости и цвета люминесценции бассейна р. Чу характеризуется вертикальной зональностью (табл. I5).

Образцы, отобранные из зоны предгорий на высоте 1100–1300 м над уровнем моря, имеют в 2–4 раза меньшую яркость свечения, чем образцы вод, отобранные на высоте 800–700 м над уровнем моря. Воды зоны предгорий имеют фиолетовые и синеватые оттенки люминесценции, характерные для очищенных питьевых вод, визуально это свечение можно охарактеризовать как "сумеречное", так как оно очень незначительно отличается от свечения дистиллированной воды. При переходе в равнинную часть показатели цветности, перманганатной окисляемости и БПК₅ возрастают, яркость люминесценции увеличивается, цветовые оттенки становятся более выраженными. Фиолетовые и синеватые тона свечения сменяются зеленоватыми и желтоватыми. Фиолето-

ные и синеватые оттенки свечения при незначительной яркости люминесценции характерны также для чистых, пригодных для питьевых целей, вод артезианских скважин и родников (Синельников, 1957)^ж. При увеличении содержания в воде органических веществ цветные оттенки люминесценции становятся более выраженными.

Таблица 15

Характеристика люминесценции вод бассейна рек Чу и Или
(1957 - 1959 гг.)

Гидро-геологический район (высота над уровнем моря)	Цветность в градусах	Перманганатная окисляемость в мг/л O ₂	БПК ₅	Люминесценция	
				Яркость в усл.ед.	Цвет
Зона предгорий долины р. Чу (1300-1100 м)	0-10	0,7-1,9	0,3-1,2	7-11	Ф, С
Зона предгорий (1100-900 м)	5-10	2,3-2,5	0,8-1,4	10-23	СФ, З
Аллювиально-прелювиальная долина р. Чу (800-700 м)	15-25	3,9-5,2	0,7-2,4	9-42	З, ЗИ, И, СГ
	10-20	3,2-2,6	2,3-5,6	10-23	СГ, С, З
Низменная равнина р. Или (600-800 м)	25-30	13,8-16,4	2,4-6,3	17-69	КИ, КК
	20-40	6,5-8,4	11,7-15,7	15-182	КК

Обозначение цветов люминесценции: Ф - фиолетовый; С - синий;

СФ - сине-фиолетовый; З - зелёный; ЗИ - зеленовато-желтоватый; И - желтоватый; СГ - сине-голубоватый; КИ - коричневатожёлтый; КК - коричневатокрасноватый.

Оптическая характеристика вод озёр Неро и Пледеево

Озеро Неро площадью 51 кв.км известно как мелководный водоём эфтрофного типа, в котором превалирует органическое вещество автохтонного происхождения. Наибольшая глубина озера - 3,5-4,5м; средняя глубина - 1,0-1,5 м. Около 80% водоема в летнее время зарастает жесткой и мягкой растительностью (рис.8). В небольших и неглубоких заливах образуются труднопроходимые заросли тростника, камыша, рогоза. В открытых водных пространствах часто встречаются сплошные заросли рдеста пронзечнолистного, образующие подводные луга - тарнавы. В результате отмирания растительности и накопления терригенной взвеси на дне озера образовались мощные иловые отложения, величина которых оценивается в 250 млн. м³.

Величина перманганатной окисляемости во время наших наблюдений (июнь, август 1963 г.) колебалась от 9,2 до 13,6 мг/л O₂;

БПК₅ 6,1-11,4 мг/л при концентрации растворенного O₂ 8,2-9,3 мг/л. Аммонийный азот составляет 0,24-2,46 мг/л, азот нитратов - 0,005-0,01 мг/л. Цветность водных масс озера во всех районах водоёма оказалась одинаковой и составляла 30-35°.

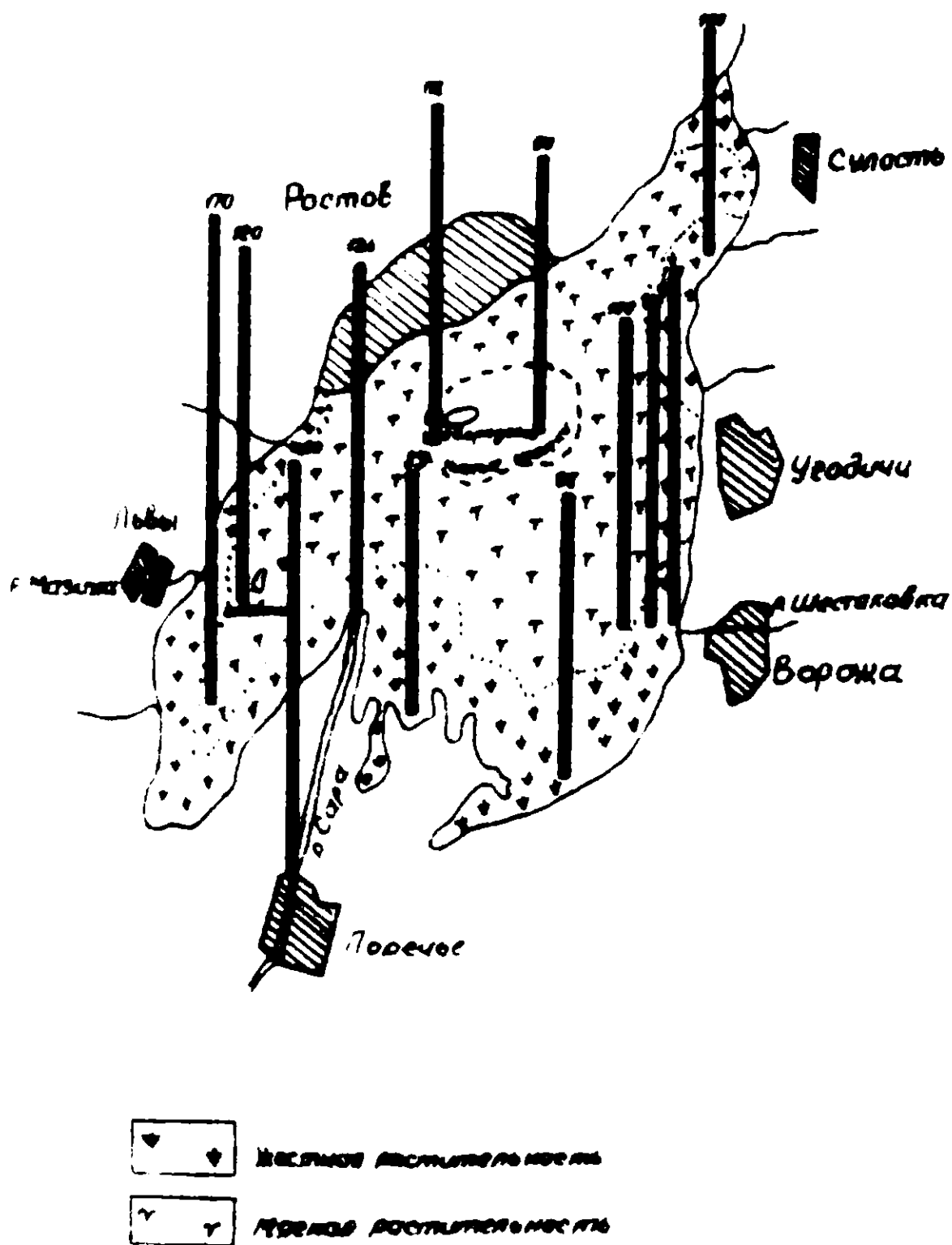


рис. 5. Схема распределения кустов лютиковых в вод оз. Неро

Определение цветности вод Неро было затруднено в связи с тем, что вода имела зеленоватый оттенок, отличающийся от цветового тона имитирующей шкалы.

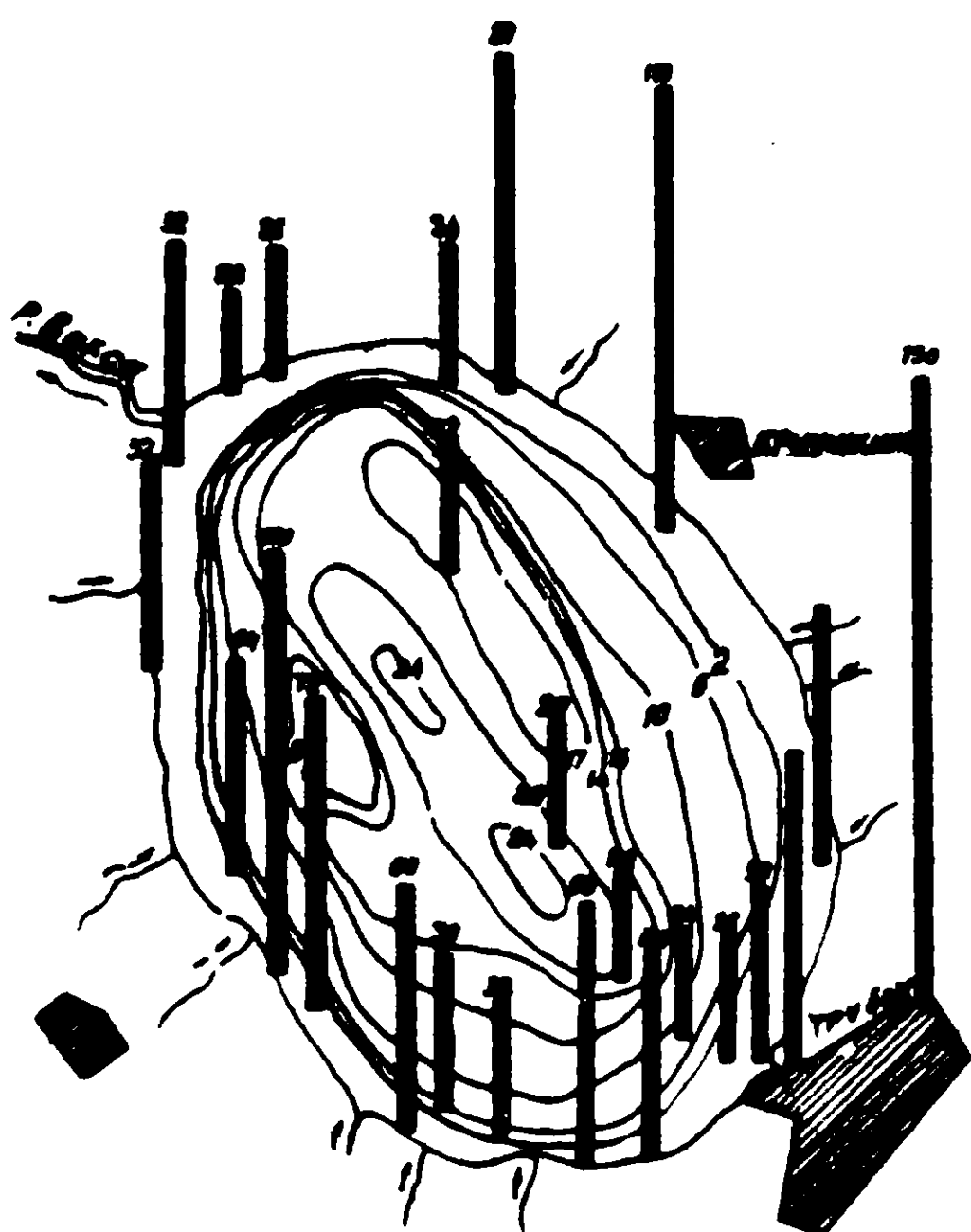
В начале зеленоватый тон вод Неро был выражен более слабо, чем в августе, когда до 80% водоёма заросло высшей водной растительностью. В это время цветность повысилась до 40-50°, а в зарослях до 80-120°. Зелёный тон воды стал более интенсивным, а в зарослях он приобрёл бурый оттенок.

В этом месяце отмечена более высокая оптическая плотность в ультрафиолетовой области спектра. В области 650-700 нм оптическая плотность минимальна. Поглощение несколько усиливается в области 400-500 нм и особенно возрастает в ультрафиолетовой области (350-250 нм). Оптическая плотность в ультрафиолетовой области вод Неро была в 1,5 раза выше, чем в воде Рыбинского водохранилища с такой же цветностью.

Сравнение величины поглощения света в области 400 нм с водами оз. Неро в июне и в августе показывает, что оптическая плотность вод в этой области спектра в августе месяце возросла более чем в два раза, а в ультрафиолетовой области поглощение возросло

в пять раз. Цветность воды мезотрофного оз. Плещеево в пелагиали составляет 15–20°. Поглощение света водами оз. Плещеево на 18% ниже, чем водами оз. Неро; в ультрафиолетовой области образцы вод из оз. Плещеево поглощают свет в два раза слабее, чем воды оз. Неро. Если сравнивать водные массы оз. Неро в открытой части и на мелководье по спектрам поглощения в видимой области, то они оказываются однородными, а при том же сравнении в ультрафиолетовой области выясняется, что в июне 1963 г. поглощение ультрафиолетового излучения образцами вод из побережья было более интенсивным.

Данные о яркости свечения вод озера представлены на рис. 8. Как видно из схем распределения яркости люминесценции вод озера,



Плещеево - Замский

Рис. 8. Схема распределения яркости люминесценции вод оз. П. Плещеево

свечение на всех участках было высоким, что, в общем, характерно для эвтрофного водоема. Яркость люминесценции на отдельных участках побережья оказалась несколько выше (эти данные относятся к июню, когда зарастание поверхности водоема было незначительным). В августе яркость свечения возросла в 2,0–2,5 раза.

На отдельных участках озера на один градус цветности приходится 3,4–4,0 единиц интенсивности флуоресценции, т.е. флуоресцирующее вещество озера светится в два раза ярче, чем фульвокислота дерново-подзолистой почвы Московской области. Цвет флуоресценции в июне был сине-фиолетовым, в августе – белесым, а пробы в

феврале 1965 г. люминесцировали синим цветом. Яркость свечения оставалась столь же высокой, как и в начале июня 1963 г.

Распределение интенсивности флуоресценции водных масс озера на Плещеево представлено на рис. 9. В пелагической части озера на один градус цветности приходилось 2,0–2,8 единиц флуоресценции (июль 1963 г.) и до 3,3–3,5-при обследовании в августе. Интенсивность флуоресценции мезотрофного оз. Плещеево в 2,5–4,0 раза ниже,

Таблица 16

Характеристика вод литорали оз. Плещеево

№	Вид растительности	Цветность (в °)	Перманганатная окисляемость в (O ₂ мг/л)	Жесткость в (мг/экв.)	Cl ⁻ - ион (мг/л)	Яркость люминесценции (усл. ед.)	Яркость на I ⁰ цветности
1.	Мягкий	40-50	34,4-28,7	4,0-3,6	20-28	98-49	1,9
2.	Тростник	15-25 35-50	5,52-4,72 14,4-8,3	3,3-3,4	14-17 24	112-98	2,2-2,8
3.	Ситняг	15-25	3,7-5,8	3,3-4,8	16-21	49-73	2,9-3,2
4.	Хвощ	20-25	6,4-7,8	2,7-3,1	17	58-64	2,5-2,6
5.	Стрелолист	10-30	5,1-7,5	2,7-3,1	18-20	42-84	2,8-4,2
6.	Тростника оводничная	15-25	3,8-6,1	4,1	-	46-71	2,8-3,0
7.	Камыш	10-15	3,8-7,3	5,0	14-21	33-38	2,6-3,0
8.	Хара	10-20	3,8-5,6	3,6-4,0	13-14	55-60	3,0
9.	Рдест пронзённо-листный	5,0-10	3,0-4,4	3,1-3,4	13-15	34-38	3,4-3,8
10.	Песчаная литораль	5,0-10	3,4-4,1	2,6	13	34-37	3,5
11.	Илисто-песчаная литораль	10-35	7,1-4,6	5,2-3,1	44-13	29-75	2,0-2,9

чем на озере Неро. В литоральной части озера интенсивность свечения и отношение цветности к яркости зависят от типа зарослей высшей водной растительности.

Проведенные наблюдения (табл. I⁴, I5, I6) показывают, что люминесцентные свойства воды связаны с географическим расположением и лимнологическим типом водоёма, зависят от времени года, от биологических процессов, происходящих в водоёме.

Флуоресценция воды как показатель водных масс пресных водоёмов и моря

Показатели, пригодные для оценки распределения и трансформации водных масс в водохранилищах, сформулированы Н.В.Буторным [24]. Автор отмечает, что репрезентативность показателя водной массы зависит не только от его консерватизма. Если различие между значениями показателей двух и более находящихся в водоёме масс невелико, по сравнению с возможной ошибкой метода определения его величины, такой показатель, даже достаточно консервативный, нельзя считать пригодным для выделения водных масс. Для суждения о применимости показателя при оценке водных масс нужно знать среднюю погрешность определения, максимальный размах варьирования ряда и отношение первой величины ко второй (параметр репрезентативности K).

Максимальный размах варьирования интенсивности флуоресценции в Рыбинском водохранилище (1967 г.), по нашим определениям, составлял 96 ед. по шкале флуорометра, погрешность определения — 3 ед., коэффициент — K=32. Таким образом, надёжность характеристики интенсивности флуоресценции аналогична надёжности определения общей жёсткости и гидрокарбонатов.

При использовании интенсивности флуоресценции в качестве показателя необходимо помнить, что в водах с цветностью более 50° иногда имеет место концентрационное тушение (табл. I7). Содержание органического вещества в этих водах по органическому углероду — 8–12 мг/л, а в пересчёте на общее органическое вещество — в пределах 20–25 мг/л. При таких количествах ($2 \cdot 10^{-3}\%$) концентрационного тушения обычно не наблюдается, поэтому возрастание интенсивности флуоресценции при разбавлении исследуемой воды дистиллированной водой можно объяснить влиянием примеси (табл. I7). В водах Угличского водохранилища после разбавления её в 10 раз дистиллированной водой интенсивность флуоресценции возросла на 20%. Величина возрастания интенсивности свечения при разбавлении на других образцах вод с той же самой цветностью может варьировать от 15 до 35%. В качестве тушащих примесей могут быть названы соли железа и гуминовая кислота, снижающие интенсивность флуоресценции фульвокислоты и неокрашенных флуоресцирующих соединений вод.

На интенсивность флуоресценции воды могут оказывать влияние органические вещества, выделяемые высшей водной растительностью, фитопланктоном (Синельников, 1966, 1967)^ж. В этом случае на один градус цветности приходится до четырех единиц флуоресценции.

Таблица 17

Изменение интенсивности флуоресценции вод Угличского водохранилища в единицах шкалы флуорометра ЭФ-3М при длине волны 450 нм (22-24 февраля 1963г.)

Место отбора проб	Окисляемость перманганатная мг/л O ₂	Цветность в градусах	Интенсивность флуоресценции в условн. едн.	
			До разбавления	После разбавления 1 : 10
Дубна	7,65	45	92	90
Сухово	8,32	45	90	90
Нимры	10,61	50	110	100
Головино	11,33	50	106	100
Белый городок	10,79	50	108	100
Басовская	10,32	50	110	100
Нижне р. Медведицы (Новоселки)	12,94	55	120	140
Нижне р. Каменки (Воскресенское)	13,61	55	120	146
Калязин	12,97	55	120	146
Прилуки	13,29	53	120	146
Углич	13,11	55	120	140

Выражение результатов в условных единицах шкалы флуорометра должно быть заменено данными концентрации содержащегося в воде флуоресцирующего вещества. Проведение этой работы осложняется тем, что окрашенные органические вещества различного происхождения имеют неодинаковую интенсивность флуоресценции, приходящуюся на 1 мг органического вещества. Поэтому при обследовании отдельных участков водоема необходимо выделять органическое вещество в зоне капиллярного поднятия на полоске хроматографической бумаги, освобождать его путем дополнительного разделения избирательными растворителями от минеральных солей и определять интенсивность свечения предварительно взвешенной фракции флуоресцирующего вещества. По данным Синельникова [161], на одно деление шкалы флуорометра ЭФ-3М приходится 0,0015-0,006 мг флуоресцирующего органического вещества из вод г. Москвы. По другим определениям интенсивности флуоресценции органического вещества из вод Рыбинского и Угличского водохранилищ этот показатель составил 0,1-0,005 мг.

Дж. Д. Спейн и соавторы [299] использовали определение интенсивности флуоресценции воды, наряду с другими показателями (электропроводность, определение хлоридов) для выделения водных масс озера Потидж. Интенсивность флуоресценции измерялась в рабочих единицах флуорометра при длине волны с максимумом 415 нм. Чтобы избежать влияния концентрационного тушения, образцы перед определением интенсивности флуоресценции разбавлялись в 100 раз. В Потидж-озеро впадают озёра: Верхнее, Точ-озеро и ряд больших рек. Для выделения в озере отдельных водных масс была составлена корреляционная диаграмма связи концентрации хлоридов с интенсивностью флуоресценции воды. Таким образом, были выделены три водных массы. Воды Верхнего озера характеризовались низким содержанием хлоридов и низкой флуоресценцией, воды Точ-озера - очень высоким содержанием хлоридов и значительной флуоресценцией, а речные воды имели низкое содержание хлоридов и высокую интенсивность флуоресценции. В центре корреляционной диаграммы располагались значения флуоресценции и содержания хлоридов, характерные для типичных водных масс озера Потидж.

Таким образом, находя точки для отдельного образца (X) в корреляционной диаграмме треугольника, можно определить процентное содержание в образце водных масс Точ-озера, озера Верхнего и Больших рек (обработка результатов по Кетчуму [264]):

$$\begin{aligned} S_x &= AS_a + BS_b + CS_c, \\ F_x &= AF_a + BF_b + CF_c, \\ A + B + C &= 1, \end{aligned}$$

где А, В и С - три типа вод, а S и F - значения содержания хлоридов и флуоресценции. Исходя из корреляционной диаграммы, для отдельных водных масс получены следующие соотношения между хлоридами и флуоресценцией:

А. Вода оз. Верхнего $S_a = 1$ мг Cl- $F_a = 2$ ед. флуоресценции.

В. Вода Точ-озера $S_b = 200$ мг Cl- $F_b = 41$ ед. флуоресценции.

С. Вода рек $S_c = 1,1$ мг Cl- $F_c = 46$ ед. флуоресценции.

Флуоресценция морской воды. Обзор флуоресцентных свойств морской воды дан в работах С.В. Лицарева [108-110]. Автором были проведены измерения интенсивности флуоресценции вод поверхностного слоя северной части Каспийского моря на разрезе полуостровов Мангышлак - остров Чечень. Обнаружено значительное увеличение интенсивности флуоресценции вдоль западного побережья Каспийского моря. При сопоставлении флуоресценции с содержанием хлоридов воды было обнаружено, что с увеличением доли речных вод в составе морской воды пропорционально возрастает интенсивность флуоресценции. Автор предлагает использовать определение интенсивности флуоресценции как показатель степени распределения морской воды речным стоком и как поисковый прием для обнару-

нения участков акватории с особым режимом биологической продуктивности. Сопоставление данных содержания углерода органического вещества с интенсивностью флуоресценции позволяет сделать вывод, что флуоресцирующие вещества морских вод составляют небольшую часть от общего количества растворенных в них органических веществ. Из этих работ вытекает следующее:

1. Спектры флуоресценции вод различных морей и океанов имеют одинаковый характер и представляют собой размытую полосу шириной около 130 нм с максимумом излучения в области 463 нм. Спектр возбуждения флуоресценции концентрата упаренной морской воды имеет вид размытой полосы с максимумом около 370 нм.

2. В составе комплекса флуоресцирующих соединений морской воды входят органические кислоты, которые можно выделить из воды экстракцией этилуксусным эфиром после подкисления образца [110, 118].

3. В условиях эксперимента показана возможность образования из углеводов и аминокислот флуоресцирующих соединений типа меланоидинов.

4. Сравнение спектров флуоресценции и возбуждения флуоресценции концентрата морской воды и меланоидинов, синтезированных автором, показывает различие в характере их спектров возбуждения. Вместе с тем спектры флуоресценции их весьма близки. Природа флуоресцирующих веществ морской воды пока еще полностью не выяснена.

Люминесцентный метод определения отдельных соединений

В люминесцентном анализе вод используются следующие приёмы:

а) определение веществ по цвету их флуоресценции после хроматографического разделения; флуориметрия пятна на бумаге [242, 291];

б) люминесцентная спектроскопия веществ в замороженном состоянии (фотосинтетические пигменты, ароматические углеводороды);

в) образование комплексов с люминесцирующими красителями (нуклеиновые кислоты);

г) хемилюминесцентный и биолюминесцентный методы (аденозинтрифосфат) [255, 302];

д) специфическое изменение люминесцирующей системы с помощью ферментов (определения перекиси водорода, глюкозы).

Первый приём наиболее часто используют для качественной характеристики органических веществ, выделенных из сложной смеси. Основываясь только на цвете свечения, идентифицировать неизвестное флуоресцирующее вещество невозможно, используют одновременно и другие физико-химические характеристики [221, 229]. Для качественной характеристики пигментов, выделенных из фитопланктона, осадков и донных отложений, используют их способность флуоресцировать.

Из донных отложений выделены три группы пигментов: светло-зелёные (хлорофилл и продукты его распада); каротиноиды или тетра-терпены; флавопротейны и H -гетероциклические вещества. Суэан, Паульсен и Тинг [303] предложили следующую схему разложения пигментов в донных отложениях:



Феофитин – первая стадия разрушения хлорофилла. В результате гидролиза фитольной группы в пищеварительном тракте животных и осадках образуются феопорфирины. При дальнейшем распаде порфиринов образуется филлоэритрин. Этот процесс может происходить в пищеварительном тракте и в результате деятельности бактерий – в анаэробных условиях.

Источником флуоресцирующих веществ, поступающих с осадками, является высшая водная растительность. Авторы идентифицировали в гидролизате из растений ряд флавопротейнов и гетероциклических соединений.

Таблица 18

Флуоресцирующие вещества в соляно-кислом экстракте из пресноводной растительности

Вещество	Цвет флюоресценции	R_f	Максимум в спектре поглощен.	Вид растений
Рибофлавин	Желтый; желто-зелёный	0,35–0,38	269–273	<i>Myriophyllum exalbescens</i> ; <i>M. Spicatum</i> ; <i>Najas quadalupensis</i> ; <i>Typha</i> Sp.; <i>Ceratophyllum echinatum</i>
Рибофлавин-фосфат	Желтый	0,2–0,5	272	<i>Gracilaria verrucosa</i> <i>Najas flexilis</i> ; <i>Ruppia maritima</i> ; <i>Myriophyllum Spicatum</i>
Люмихром?	Светло-голубой	0,60	261	<i>Typha</i> Sp.;
Люмифлавин?	Жёлто-белый	0,47–0,50	–	<i>Gracilaria verrucosa</i> <i>Najas flexibilis</i>
Марицетин	Жёлто-белый	0,59	–	<i>Enteromorpha prolifera</i>

Суэйн и Вентерис [147] определили качественный состав флюоресцирующих веществ в соляно-кислом гидролизате озёрных осадков. Вещества, содержащиеся в гидролизате, разделяли на бумаге системой растворителей: бутанол, уксусная кислота, вода (4:1:5). Качественная характеристика выделенных фракций дана по коэффициенту распределения и максимумам в спектре поглощения веществ, элюированных из пятна на бумаге эталоном.

Таблица 19

Характеристика флюоресцирующих веществ гидролиза озёрных осадков

Соединения	Цвет флюоресценции	R _F	Максимум поглощения
Производные индол-уксусной кислоты	Лазурный		260,375
Аминоацетофенов, антрахиловая кислота	Синий, сине-фиолетовый	0,93	310
Гидроксидантрахиловая кислота	Лазурный	0,83	265,320,297
Кинуренин	Ярко-синий	0,48	258,260,360
Витамины (люмифлавин, рибофлавин)	Жёлтый	0,49 0,33	260,360,440 269,370,445
Флавинадениндинуклеотид	Зелёно-синий	0,02	265,375,450
Люмихром	Зелёно-синий	0,70	258,260,355
Алкалоиды	Светло-синий, синий	0,54 0,81	240,290,330 250,322,350
Кумарин пигментов	Синий и зелёный	0,98 (фенол, вода)	272,315

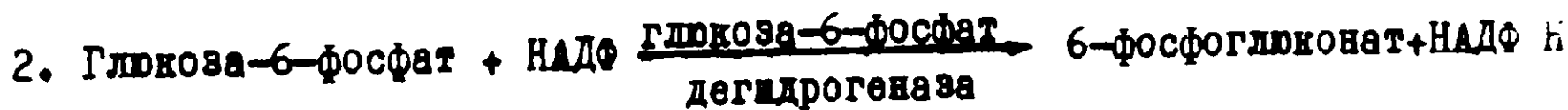
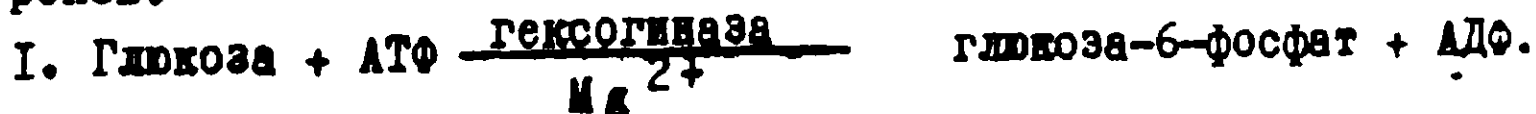
Суэйн и Вентерис идентифицировали в смеси флюоресцирующих веществ 51 соединение, разделяв их по цвету флюоресценции на 10 групп. Описание цвета носит субъективный характер. Для более достоверной характеристики веществ по цвету после их разделения необходимо сравнивать цвет исследуемого вещества с цветом эталонного образца. Для качественной характеристики флюоресцирующих веществ, выделенных из вод, еще очень мало привлекается их способность флюоресцировать и фосфоресцировать при температуре жидкого азота, данные спектров флюоресценции и фосфоресценции. Наиболее успешно эти приемы применяли для идентификации полиядерных ароматических углеводородов [63, 145, 184, 193, 242].

Роль цвета флюоресценции в качественной характеристике веществ нужно оценить как вспомогательную. Более существенной эта характеристика представляется в тех случаях, когда необходимо вы-

делить неокрашенные вещества. Их зоны на бумаге при дневном свете обнаружить не удаётся, но они легко очерчиваются при наблюдении в ультрафиолетовом свете. Но и в этом случае определение цвета флуоресценции даёт только первичную характеристику соединения. Приходится останавливаться на этом очень важном обстоятельстве, так как иногда делаются попытки характеризовать природу выделенного из сложной природной смеси вещества только по данным их флуоресценции. Повысить специфичность цветовой характеристики иногда можно путём изменения условий среды, действуя специфическими тушителями, изменяя рН.

Определение глюкозы в пресной и морской воде

Определение глюкозы в природных водах, предложенное Хиксом и Кареем, основано [249] на изменении флуоресценции комплекса красителя с ферментом под влиянием окислительно-восстановительных ферментов. При этом глюкоза в процессе дегидрирования превращается в глюкозо-6-фосфат. Это превращение происходит при участии фермента гексокиназы. Один остаток фосфорной кислоты с АТФ переносится на глюкозу. Одновременно одна молекула АТФ превращается в АДФ. Второй этап реакции происходит с участием дегидрогеназы, фермента, катализирующего межмолекулярный перенос атомов водорода и электронов.



НАДФ и НАДФН – окисленная и восстановленная формы кофермента никотинамидадениннуклеотидфосфат. Пиримидиновые ферменты никотинамидадениннуклеотидфосфат и никотинамидадениннуклеотид в восстановленном состоянии имеют интенсивную флуоресценцию и не флуоресцируют в окисленном состоянии [39]. Восстановленная форма фермента образуется с помощью красителя резарурина. Его восстановленный продукт резаруфин обладает интенсивной флуоресценцией.

3. $\text{НАДФН} + \text{резарурин} \xrightarrow[\text{Mg}^{2+}]{\text{диафораза}} \text{НАДФ} + \text{резаруфин}.$ Количество образуемого резаруфина пропорционально количеству глюкозы в образце. Использование этого красителя для аналитических целей описано Гвилболтом и Кремером [247]. Флуоресценция красителя в двадцать раз интенсивнее флуоресценции восстановленной формы кофермента.

В анализе были использованы препараты мышечной гексакиназы активностью 140 ед/мг и глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы 140 ед/мг. Единица фермента катализировала гликолиз одного микромоля субстра-

та в минуту при 25°C. Заранее приготовленные растворы 10 мм НАДФ, 100 мм АТФ (рН 7), 10 мг/мл сывороточного альбумина, 0,1 мм резазурина и 0,200 М стандартного раствора глюкозы хранили при -20°C.

Свежеотобраный образец воды пропускали через фильтр "Миллипор" размером пор 0,45 мк и фильтрат собирали в склянку, охлажденную льдом (ледяная баня). Объем образца для анализа должен быть не менее чем 250 мл. В образцы пресной воды вносили 0,2 М буферного раствора трис(гидроксиметил)аминометана рН 7,8; 0,01 мм НАДФ; 1,0 мм АТФ; 10 мм $MgCl_2$; 0,2 мг/мл сывороточного альбумина; 0,4 ед/мл гексогеназы; 0,2 ед/мл глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназы. Высокая соленость снижает активность ферментов. Морскую воду разбавляли дистиллированной водой (обычно двумя объемами H_2O), чтобы концентрация в ней солей составляла около 0,15 н. Образцы морской воды разбавляли двумя объемами дистиллированной воды, концентрацию НАДФ повышали в десять раз, концентрацию ферментов удваивали. В пробирке к трем мл подготовленного образца приливали 0,3 мл реактива, инкубировали 20 или 90-120 мин. (морскую воду) при 25°, прибавляли по 0,03 смеси (одну часть на 0,1 М на литр раствора резазурина и две части раствора диофаразы). Получалась интенсивность свечения 50 ед/мл. Пробирки переворачивали несколько раз и через несколько минут измеряли интенсивность флуоресценции на флуорометре. В работе использовали два контрольных опыта:

1. Из реактива исключали АТФ или ферменты.

2. После начальной стадии инкубации реакционную смесь подкисляли 1 н соляной кислотой до рН 2,0 и нагревали 15 мин. при 60° для разрушения НАДФ- H_2 .

Дальнейший ход анализа был следующим: 300 мкл стандартного образца глюкозы прибавляли в 3,00 мл пресной воды или образца разбавленной воды, помещенного в кювету размером 12 x 75 мм, и инвертировали. После добавления реактивов измеряли флуоресценцию каждого образца. Одновременно проводили холостой опыт. Порог обнаружения глюкозы в пресных водах составляет $1 \cdot 10^{-8}$ М, для морских вод $3 \cdot 10^{-8}$ М. Измерение флуоресценции проводили в области 580 мкм. Длина волны возбуждающего света 520 мкм. Измерения проводили на флуорометре модели "Тернер-110 или 111". Флуорометр снабжен поляроидами, уменьшающими попадание рассеянного света от стенок кюветы, что значительно уменьшило ошибку за счет фона. Содержание глюкозы определяли по результатам интенсивности флуоресценции исследованных вод с помощью калибровочной кривой (табл. 20). Распределение глюкозы в воде Атлантического океана показано в работе Ваккаро и соавторов [305].

Сравнительное содержание глюкозы в воде Атлантического океана от Бермудских островов до Дакара, Сенегала; январь 1967 г. [305].

№ стан-ций	Глу-бина (м)	Местоположение		Содержание глюкозы	
		Широ-та	Долго-та	ферментативный анализ, мкг глюкозы С/литр	бактериологический анализ
I	0	37	70	28	28
2	0	35	69	78	50
3	0	31	64	66	60
4	10	28	61	8	10
	50			11	4
	100			6	1
5	10	25	56	9	-
	50			6	-
	100			2	-
6	10	25	49	11	-
	50			4	-
	100			<2	-
7	0	25	46	9	1
8	10	24	42	3	5
	50			<2	<1
	100			<2	<1
10	0	24	38	4	-
11	10	23	36	<2	<1
	50			<2	12
	100			<2	<1
12	10	22	29	<2	8
	50			<2	<1
	100			<2	6
13	10	20	21	9	3
	50			4	9
	100			4	<1
14	10	19	18	9	3
	50			4	9
	100			11	<1
15	10	17	17	22	9
	50			29	14
	100			-	14

Аденозинтрифосфат (АТФ)

АТФ – это универсальный трансформатор и переносчик энергии в биологических процессах [18]. Предложен биолюминесцентный метод количественного определения АТФ (Стреллер и Макэдрой, 1957) *). Было обнаружено, что свечение экстракта из светящихся органов светляков, содержащих люциферин и фермент люциферазу, возникает только после добавления к системе АТФ. Интенсивность биолюминесценции в широком диапазоне концентраций пропорциональна количеству добавленного АТФ. Помимо люциферина, люциферазы и АТФ, для возникновения свечения необходимо присутствие магния и кислорода. Чувствительность метода 10^{-8} мг/мл АТФ.

В качестве исходного материала для получения люциферина и люциферазы используют светящиеся органы – "хвосты светляков" [189]. Насекомых сразу же после поймания высушивают в вакуум-эксихаторе и удаляют у них светящиеся органы. "Хвосты" хранят в запаянных ампулах на холоде (-20°C). Экстракт готовят накануне определения, но в замороженном виде он хранится несколько дней. Для 10 мл экстракта берут 100 мг высушенных "хвостов", которые растирают с песком и экстрагируют трисбуфером (рН 7,5). Экстракт из органов светляков фильтруют в воронке Бюхнера для удаления клеточных остатков и добавляют к нему 100 мг $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$. Этот экстракт служит исходным реактивом для определения АТФ. Биолюминесцентная реакция для определения АТФ в морской воде применена Холм-Хансеном (1966) и Хамилтоном (1967) *). Хамилтон и Холм-Хансен связывают появление АТФ в морской воде с деятельностью бактериальных гетеротрофов [255]. По содержанию АТФ определяли распределение биомассы гетеротрофных растущих клеток (табл. 21 и 22) в океане. Чувствительность метода не ниже 10^{-4} мкг/л АТФ.

Для определения АТФ образец воды фильтровали через мембранный фильтр размером пор 0,45 мк. Тотчас после просыхания остатка на фильтре его быстро помещали в маленький стакан и заливали горячим трисбуфером (4 мл 0,02 М рН 7,75). Стаканчик ставили в горячую воду на пять минут, после чего переносили его в калиброванную трубку. Для удаления остатков на фильтре его прополаскивали одним или двумя мл трисбуфера и подогревали две минуты. Экстракты соединяли, измеряли их объем и хранили для анализа при -25°C . Калибровочную кривую АТФ готовили на трисбуфере. Серия растворов готовилась таким образом, чтобы конечный раствор содержал 0,1 мг АТФ/мл. В экстракт, полученный приведенным выше способом, прибавляли люциферин-люциферазную систему. Возникшую биолюминесценцию регистрировали с помощью высокочувствительной фотометрической установки [46]. Реакция биолюминесценции, как и все ферментативные реакции, весьма чувствительна к температуре, поэтому необходимо термостатировать

цветное отделение. Оптимальный интервал температур равен 28–29°. Максимум возникающего свечения расположен в зелёной области спектра. Интенсивность биолюминесценции измеряют через 0,5–2 минуты после начала реакции. Количество АТФ в исследуемом образце определяют по кривым, построенным на чистых растворах АТФ заданной концентрации. Её готовили из натриевой соли АТФ.

Лодм-Хансен и Бас (1966)^ж [255] приводят данные о содержании АТФ на двух разрезах близ побережья южной Калифорнии на глубинах до 1025 м. Объём обработанной воды составлял около двух литров. Содержание АТФ в водах калифорнийского побережья испытывало значительные колебания в зависимости от глубины взятия пробы.

Максимально обнаруженные концентрации АТФ составляют 200–350 мкг/л. Они зарегистрированы в верхнем 30-метровом слое. Ниже слоя фотосинтеза содержание АТФ резко уменьшается, обнаруживая некоторое повышение (34–66 мкг/л) на горизонте около 400 м. Определение АТФ производили в лабораторных условиях в культурах водорослей и бактерий (табл.21).

Определение перекиси водорода

Перекись водорода один из продуктов, выделяемых в результате обмена веществ. Её присутствие в воде выполняет определенную экологическую функцию, регулируя развитие одноклеточных водорослей (см. работы Баалена в обзоре [162]). Она служит промежуточным продуктом в фотохимических реакциях и при окислении органических веществ по цепному свободно-радикальному механизму [121]. Подробнее о значении перекисей в превращении веществ в водоеме написано в главе V.

Известен ряд попыток определить содержание перекисей в метеорных осадках и водах суши [202]. В этих определениях использован йодометрический метод. Но реакция гидроперекисей с йодидом калия в кислом растворе в отсутствие кислорода не специфична, так как и многие другие окислители, содержащиеся в природных водах, вступают в реакцию с йодидом. Поэтому при использовании йодометрического и других методов определения перекиси в воде необходимо отличать эффект, связанный с воздействием перекисей, от действия других окислителей. Так, применяя йодометрический метод определения перекиси в воде, В.Е. Синельников [166] судил о ее концентрации по разности в количестве тиосульфата, который пошел на титрование в образцах исследуемой воды и воды, в которой перекись была разрушена каталазой. Каталаза-фермент специфически разлагает

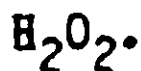


Таблица 21

Концентрация АТФ в различных морских микроорганизмах, выраженная в % от сухого веса клеток

Организм	Число определений	АТФ процент/сухой вес	
		колебания	средние знач.
Бактерии штамм G-6	8	0,072-0,14	0,098
Штамм CL - 7	6	0,18 -0,22	0,20
Штамм GU - 1	1	-	0,14
Водоросли:			
<i>Skeletonema costatum</i>	4	0,028-0,036	0,031
<i>Amphidinium carteri</i>	8	0,005-0,027	0,015
<i>Danaliella tetraeleita</i>	19	0,020-0,49	0,15
<i>Syracosphaera elongata</i>	2	0,002-0,004	0,003
<i>Monochrysis lutheri</i>	11	0,010-0,049	0,028
<i>Cyclotella nana</i>	1	-	0,084
<i>Ditylum brightwellii</i>	2	0,10 -0,13	0,12
<i>Rhizosolenia</i> sp.	2	0,15 -0,17	0,16

Таблица 22

Распределение АТФ и органического углерода на различных глубинах на одной станции у Калифорнийского побережья
(33° 18,5 и 118° 40)

Глубина (м)	АТФ (мкг/л)	Органический углерод в частицах мкг/л, найденный прямым анализом	Органический углерод клеток мкг/л (высчитан из данных АТФ)	Углерод в живых клетках в % от общего углерода частиц *)
10	126	79	33,6	42
30	357	120	95,0	79
103	17,3	33	4,6	14
183	6,1	51	1,6	3,1
200	10,7	44	2,6	5,9
315	6,4	40	1,7	4,2
386	34,3	34	9,1	27,0
500	6,4	57	1,7	3,1
722	4,0	45	1,1	2,4
1025	0,5	20	0,13	0,6

*) При определении бактериальной биомассы основанной на концентрации АТФ исходили из сухого веса бактерий: одна клетка 1,10 мкг 40% С, 0,15% АТФ.

Используя хемилюминесцентный метод качественного и количественного определения перекиси, необходимо также выделить хемилюминесценцию, возникающую благодаря воздействию перекиси от свечения, связанного с влиянием других окислителей, например, металлов переходной валентности. Это достигается введением в исследуемую воду ферментов каталазы или пероксидазы. После разрушения перекиси каталазой интенсивность свечения уменьшается по сравнению с интенсивностью свечения воды, в которую был добавлен люминол и феррицианид.

Аналогичным образом действует пероксидаза. Этот фермент повышает реактивность перекиси. В присутствии пероксидазы перекись быстро расходуется на окисление ряда органических веществ. Определение перекиси в воде по методу Ван Баалена и Марлера основано на специфическом изменении хемилюминесценции скополетина введением пероксидазы. Для определения перекиси водорода в биологических средах этот метод был ранее разработан Андре Перчкой и Бродой [216, 290]. Скополетин (6-метил-7-гидроксил-гидроксил-1,2-бензпирен) в водных растворах достаточно устойчив к воздействию рассеянного света и не окисляется одной H_2O_2 или другими пероксидазами. Под влиянием фильтрованного ультрафиолетового излучения скополетин флуоресцирует. В присутствии H_2O_2 и пероксидазы скополетин окисляется. Показана зависимость между количеством H_2O_2 и окислением пероксидазой скополетина. Степень окисления определяют по уменьшению интенсивности флуоресценции. В систему вводили 10^{-8} М/мл скополетина. Содержание H_2O_2 определяли по уменьшению интенсивности флуоресценции через 3 минуты после прибавления к образцу пероксидазы. Чувствительность метода в опытах Перчка и Броды (1961) составляла 10^{-10} М с ошибкой измерения 10%. Одновременно ставили холостой опыт на биодистиллированной воде, чтобы примеси в ней не вызывали самоокисления системы. Количество скополетина подбирают таким образом, чтобы 3/4 его использовалось в реакции окисления. Скорость окисления зависит от времени и от температуры.

Определение H_2O_2 в морской воде по Ван Баалену и Марлеру (1966) проводили следующим образом. Образцы воды собирали в сосуды из стекла или пластика. Воду исследовали по возможности не позже чем через 30 минут после отбора. К 6 мл нефльтрованной воде прибавляли 0,5 мл (1 мкг) скополетина и 0,5 мл 0,08 М буферного раствора тригидроксиэтилметиламина с pH 8,0. После замерения начальной флуоресценции прибавляли 0,05 мл (200 мкг) пероксидазы, через 30 минут снова измеряли интенсивность флуоресценции. По степени падения и интенсивности флуоресценции рассчитывали концентрацию H_2O_2 . Прибавление каталазы к образцам морской воды резко выраженной положительной реакцией на H_2O_2 полностью ликвидировало активность скополетин-пероксидазной системы.

Выделение из воды осадков белка и белковоподобных веществ и их качественное и количественное определение произведено Поволодо и Герлетте (см. Синельников, 1968)^ж).

Водорастворимые органические вещества, которые содержат азот, полученные в результате кислотного гидролиза осадков и давшие положительную реакцию с нингидрином, рассматриваются как комплекс протеинов и продуктов распада с гумусовыми веществами (Поволодо, 1961)^ж). Отмечена их способность к люминесценции. Дальнейшая идентификация окрашенных фракций, разделенных на сефадексе Г-25, показала, что фракции, положительно реагирующие с нингидрином и с реактивом Фолин-Даникальто на протеин, обладали желто-зеленой флуоресценцией. Эти же фракции имели высокую оптическую плотность в ультрафиолетовой области спектра. Некоторые из них содержали (поли)фенольные группы. Люминесцирующие органические вещества, выделенные на сефадексах или ионообменных смолах, при идентификации нуждаются в специфических контролях, которые бы подтверждали отношение регистрируемой люминесценции к конкретному соединению. Таковыми специфическими контрольными реакциями могут быть воздействия ферментами. Ферментными реакциями в качестве контроля рекомендуют пользоваться при определении нуклеопротеидов в флуоресцентном комплексе нуклеиновых кислот с акридиновым оранжевым.

Дезоксирибонуклеиновая (ДНК) и рибонуклеиновая (РНК) кислоты - сложные белки нуклеотиды, которые содержатся в ядерном аппарате клеток и выполняют специфические функции в передаче наследственных признаков. Их комплексы с акридиновым оранжевым обладают яркой флуоресценцией [68]. Флуоресцентный анализ используют для определения микроколичества нуклеиновых кислот в биологических средах и в объектах внешней среды. Окраска комплекса не специфична и зависит от pH. Например, интенсивность красной флуоресценции комплексов акридинового оранжевого с РНК возрастает при повышении pH раствора с 3,0 до 5,0. Флуоресцирующая окраска не возникает после обработки ферментами. Нуклеазы - деполимеризующие ферменты, действующие на нуклеиновую кислоту. К ним принадлежат ферменты, которые деполимеризуют высокомолекулярные нуклеиновые кислоты растительного и животного происхождения с образованием мононуклеотидов рибонуклеазы [4].

При определении нуклеиновых кислот в клетках водорослей с помощью 0,1% акридинового оранжевого [130] ДНК окрашивалась в зеленый цвет, а РНК - в красный. В некоторых случаях при ослаблении физиологической активности клеток автор отмечал снижение интенсивности красного цвета с переходом его в оранжевый и далее в желтый.

В сильно кислом растворе нуклеиновые кислоты имеют собственную флуоресценцию, однако интенсивность их, по сравнению с НК-акридинового комплекса, в 1000 раз ниже [42]. Максимум флуоресценции находится в области 450–550 нм. При определении ДНК в окружающей среде необходимо учитывать, что акридиновые красители могут образовывать комплексы и с другими полимерами. Поэтому для получения данных, специфичных для нуклеиновых кислот, люминесцентный метод сочетают с ферментными реакциями, а о присутствии нуклеиновых кислот судят по изменению интенсивности флуоресценции до и после ферментного воздействия. К специфическим ферментам, разрушающим нуклеиновые кислоты, относятся ДНК-аза, рибонуклеаза. Эти ферменты осуществляют специфическую деполимеризацию нуклеиновых кислот. Продукты распада НК и их ферментативного гидролиза не дают специфического окрашивания с акридиновым оранжевым. Нуклеазы деполимеризуют высокомолекулярные нуклеиновые кислоты растительного и животного происхождения с образованием мононуклеотидов, что позволяет использовать эту группу ферментов в качественном и количественном анализе на нуклеиновые кислоты.

Холм-Хансен с соавторами [256] предложили следующий метод количественного определения ДНК во взвешках из морской воды, в основе которого использовано образование флуоресцирующего комплекса ДНК с дегидрохлоридом 3,5-диаминобензойной кислоты [265]. Между интенсивностью флуоресценции и содержанием ДНК от 0,2 до 40 мкг в измеряемом объёме существует линейная зависимость.

Для определения ДНК в поверхностных водах брались образцы объёмом 0,1–1,0 л и из глубоких горизонтов океана – 1,0–4,0 л. Отобранную воду тотчас профильтровывали под вакуумом через фильтр с размерами пор 0,45 мк. И фильтрат до определения хранили при 20°C.

В анализе использованы следующие реактивы:

1. Перекристаллизованный дегидрохлорид 3,5-диаминобензойной кислоты.
2. Стандартный раствор ДНК в 1 н NH_4OH . Серию стандартных растворов ДНК готовят разбавлением (1,2,5,10,20,40 мкг) исходного раствора в 1 н. NH_4OH . Исходный раствор ДНК хранят при 5°C, а стандартную серию готовят каждый раз перед использованием.
3. 0,6 н хлорная кислота. Готовят её прибавлением 27 мл концентрированной HClO_4 (70–72%) к 473 мл дистиллированной воды.
4. Суспензия диатомовых. Каждый раз перед использованием 0,25 г сухой суспензии диатомовых разбавляют в 100 мл дистиллированной воды.
5. Ацетон, 6,10% раствор трихлоруксусной кислоты, 7,95% этиловый спирт. Одновременно с подготовкой образцов готовят контрольную пробу фильтрованием 1,0 мл суспензии диатомовых в 5–10 мл

морской воды. Каждый из них помещали в центрифужный стаканчик, туда прибавляли по 5 мл абсолютного ацетона и встряхивали. Длительность экстракции - 20 мин. Затем образец центрифугировали при 1500 об/мин. С помощью пастеровской пипетки отделяли осветленный центрифугат от взвесей. Затем повторяли экстракцию 3,0 мл 90% ацетона. После экстракции 5 мл холодного (5°C) 10% раствора трихлоруксусной кислоты и 5,0 мл 95% раствора этилового спирта к центрифугату добавляли микропипеткой 100 мкл дигидрохлорида 3,5-диаминобензойной кислоты. Образец в течение часа подогревали на водяной бане, после чего в каждый образец прибавляли по 5 мл хлорной кислоты, встряхивали и центрифугировали четыре минуты.

Флуоресцирующий комплекс ДНК в растворе хлорной кислоты устойчив при комнатной температуре, измерение интенсивности флуоресценции можно проводить через несколько часов после приготовления. Интенсивность флуоресценции определяли с помощью флуорометра Турнера (модель II). Обработка контрольного образца *Thalassiosira fluviatilis* ДНК - азот подтвердила, что измеряемая флуоресценция связана с ДНК (табл.23).

Таблица 23

Содержание ДНК, хлорофилла, органического углерода и азота в образцах, отобранных на четырех станциях близ Ла Йолла, Калифорния

Показатели	с т а н ц и и					
	№ 1	№ 2	№ 3		№ 4	
Глубина в м	0,5	10	14	69	20	70
Хлорофилл мкг/л	-	0,76	0,93	-	0,56	-
Органический С мкг/л	388	259	196	63	150	48
Органический N мкг/л	65	39	33	8	26	7
ДНК мкг/л	19	30	18	5	15	4
ДНК х (100/Σ С)	4,9	11,5	9,2	7,9	10	8,3
ДНК-N х (100/Σ N)	4,8	12	8,6	10	9,4	9,0
ДНК-С х (100/Σ С)	1,8	4,2	3,2	3,0	3,6	2,9

10 мл контрольной суспензии пресноводных диатомовых содержали 1,6 мкг ДНК в образце. Стандартное отклонение - 0,12 мкг. При содержании в пробе ДНК выше 40 мкг её нужно разбавлять. Как видно из таблицы, азот, связанный с ДНК, составляет 4,8-12% от общего азота. Углерод ДНК составляет 1,8-4,2% от общего углерода. Отношение ДНК к хлорофиллу было высоким и в трех станциях составляло 19,27 и 39. Определение ДНК предлагается использовать как показатель биомассы для оценки степени развития зоо- и фитопланктона.

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД В ИССЛЕДОВАНИЯХ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ВОДОЁМОВ

В последние годы всё большее распространение получают некоторые новые положения, связанные с контролем качества поверхностных вод и охраной водоёмов от загрязнения. Эта новая точка зрения состоит в том, что очищенные на станциях аэрации сточные воды резко отличаются от природных вод и в таком виде выпуск их в водоёмы нежелателен [115]. В особенно неблагоприятных условиях оказываются малые реки, в которых невозможно ввиду их небольших расходов обеспечить необходимую кратность разбавления поступающих в водоёмы сточных вод [53, 54]. Так, например, с очищенными стоками поступает значительное количество щелочных металлов. По данным, полученным летом 1965 г., при расходе воды у Софьино в $89 \text{ м}^3/\text{сек}$ количество натрия в реке составляло 339, калия — 66, хлор-иона — 552, аммонийного азота — 50,2 тонн. Из этого количества на долю промышленных сточных вод приходится натрия около $9/10$ частей, калия — $1/4$ и хлор-иона — $9/10$ общего сброса. Таким образом, промышленность играет весьма значительную роль в формировании химического состава сточных вод реки. Несмотря на передачу большого количества сточных вод, на основные очистные сооружения, сбрасывающие стоки ниже Перервинской плотины, содержание хлоридов в пределах города возросло за 20 лет более чем в два раза. Очищенные сточные воды станций аэрации Москвы представляют собой источник поступления в реку биогенных элементов и органического вещества. В осенний период на Москве-реке не отмечалось сколько-нибудь заметного снижения легкораспадающегося органического вещества (по БПК) на всём протяжении реки ниже сброса основных стоков города. Одна из причин этого явления состоит в том, что органическое вещество вод в основном представлено трудно окисляющимися соединениями. К таковым в первую очередь относится органическое вещество стоков, прошедших полную биологическую очистку, а также органические вещества промышленного синтеза [55].

В водах открытых водоёмов возрастает количество соединений ароматического и гетероциклического ряда, углеводородов нефтяного происхождения, антиокислителей, детергентов, красителей и оптических отбеливателей [52-55, 122, 164].

Эти соединения изменяют органолептические, физические и химические свойства вод: увеличивают способность воды к пенообразованию, повышают её цветность и изменяют цветовой тон окраски, вызывают интенсивную флуоресценцию в видимой и ультрафиолетовой областях спектра. Лишь часть из большого числа органических соедине-

ний промышленного синтеза пока может быть определена. Вместе с тем при изучении качества воды малых рек на участках загрязнения и самоочищения кильно группа стойких органических соединений становится предметом основного внимания.

Оценка степени загрязнения водоёма обосновывается, как правило, двумя категориями признаков. В первую категорию можно объединить показатели изменения состава химических соединений, содержащихся в воде. Ко второй можно отнести суммарные показатели изменения качества воды, понимая под этим изменением физико-химических свойств среды (рН, окислительно-восстановительный потенциал, цветность, прозрачность) и реакцию водных организмов (фотосинтез, БПК) на изменившиеся условия обитания.

Помня о важности определения отдельных ингредиентов, содержащихся в водах, нужно отметить, что общие показатели качества воды в условиях увеличивающегося поступления в водоёмы разнообразных по происхождению и свойствам соединений приобретают всё большее значение и для контрольных целей и для нормирования. Явление люминесценции используется и для определения отдельных показателей состава, и как суммарный показатель качества воды, отражающий изменения её оптических свойств.

Отметим следующие случаи применения люминесцентного анализа для изучения загрязнённых водоёмов:

1. Изучение оптических свойств загрязнённых вод: наряду с определениями их прозрачности и цветности, измеряют интенсивность флуоресценции в видимой и ультрафиолетовой областях спектра [157, 239, 282].

2. Если выделяемые из воды флуоресцирующие вещества обладают необычным для природных вод цветом флуоресценции или фосфоресценции [295] (например, красители), они могут использоваться в качестве естественной метки, с помощью которой можно судить об условиях распространения, вносимых в водоём загрязнений [164].

С этой же целью в водоём вводят искусственную метку в виде ярко флуоресцирующего красителя (родамина, флуоресцина) и по изменению интенсивности флуоресценции изучают закономерности распределения и распространения стойких вод [161, 282].

3. Люминесцентный метод используют для количественных определений специфических органических веществ, обнаружение которых в водоемах имеет значение для оценки их загрязнения промышленными и бытовыми стоками [298]. Разработаны люминесцентные методы определения металлов в воде [57]. Некоторые определения природных органических веществ также могут быть использованы для оценки изменений состава воды, происшедших в результате загрязнения [224, 308].

4. Широкие возможности для оценки процессов самоочищения заложены в более глубоком изучении механизма окисления органических веществ и использования для этой цели метода хемилюминесценции и фтостехемилюминесценции [239] .

5. Определения, основанные на регистрации хемилюминесценции, возникающей в биологических средах водных организмов, используют для регистрации первичных реакций и тонких механизмов действия токсикантов на гидробионты [62, 173, 200] .

6. Явление люминесценции нашло применение в работах по санитарной бактериологии . Люминесцентный анализ используют в определениях степени загрязнения воды фекальной группой бактерий при иммунологической идентификации отдельных видов бактерий и возбудителей инфекционных заболеваний [59, 128, 250, 267, 284] .

Флуоресцирующие органические вещества, поступающие в водоём с промышленными сточными водами, можно разделить на две группы:

а) вещества, у которых способность светиться под влиянием ультрафиолетового излучения служит второстепенным признаком, не имеющим практического использования. Это очень большая группа веществ, в которую входят разнообразные классы химических соединений, сложные эфиры, используемые для синтеза душистых веществ, ароматические углеводороды, полупродукты, применяемые в синтезе искусственного волокна и красителей, каучука и пластмасс.

б) Вещества, люминесцентные свойства которых непосредственно используются для практических целей. Как правило, это трио светящиеся соединения. Они объединены в группу люминофоров. К ним относятся светящиеся красители (флуорохромы), оптические отбеливатели, сцинтилляторы. Если раньше их производство ограничивалось небольшими количествами, то постепенно выпуск некоторых из них приближается к крупнотоннажному производству. Флуоресцирующие красители и отбеливатели в настоящее время уже весьма широко используются текстильной промышленностью и в быту.

В табл.24 представлен перечень люминесцирующих веществ, которые могут присутствовать в сточных водах разных отраслей промышленности. Люминесцентные свойства сточных вод и загрязняемых ими открытых водоёмов центрального промышленного района изучались на протяжении ряда лет автором этого обзора. Высокая плотность населения и концентрация промышленности в Центральном промышленном районе послужили причиной значительных изменений, возникающих в реках и водоёмах, находящихся на его территории. В этом районе сосредоточены современные ведущие отрасли промышленности: металлургия (г. Череповец), химия (гг. Москва, Дзержинск, Калуга, Воскресенск), переработка нефти (гг. Ярославль, Кстов), переработка древесины (г. Балахна), текстильная промышленность (г. Орехово-Зуево, Кинешма, Ногинск), машиностроение (г.г. Владимир, Рязань, Калуга).

**Люминесцирующие продукты сточных вод некоторых
отраслей промышленности**

Производство	Люминесцирующие продукты
Добыча нефти и производство нефтепродуктов	Нефть и отдельные её фракции: ароматические углеводороды, нафтеновые кислоты, масла, смолы, битумы
Нефтехимический синтез	Ароматические углеводороды и их производные, полупродукты полимеризации олефинов, высшие жирные кислоты, смолы
Коксохимическое производство	Фенол и полифенолы, пиридиновые основания, гомологи хинолина, каменноугольные смолы как побочные продукты, 3,4-бензпирен
Фармацевтическое производство	Производные барбитурской кислоты, отходы производства антибиотиков, анальгетиков, антипиретиков, бактерицидных и противовоспалительных веществ, отходы при выработке галеновых препаратов
Синтез душистых веществ	Полупродукты и кубовые остатки синтеза: эфирные масла, ароматические спирты, кетоны и альдегиды, сложные эфиры
Синтез каучука	Продукты полимеризации производных пиридина, стирола, изопрена и других каучукогенов
Синтез красителей	Производство ксантеновых, акридиновых красителей, азокрасители (в адсорбированном состоянии)
Лесохимическое производство	Продукты гидролиза древесины (целлюлозы), дубильные вещества, терпены, растительные смолы, эфирные масла
Синтез пластмасс	Поливинилхлорид, полистирол, полиметилметакрилат (в органических растворителях), некоторые пластификаторы, красители
Легкая промышленность	Оптические отбеливатели (производные стильбена, кумарина, имидазола, оксазола), некоторые красители и вещества, применяемые для аппретирования тканей
Пищевая промышленность	Белки растительного и животного происхождения, некоторые аминокислоты, растительные (хлорофилл, феофитин, каротин) и животные пигменты

Таким образом, при изучении люминесцентных свойств вод открытых водоёмов Центрального промышленного района представлялась возможность наиболее широко охватить те изменения, которые связаны с поступлением в водоём вод различных отраслей промышленности. Наиболее отчётливо изменения качества воды прослеживались в районах основных промышленных узлов: на Волге – Калинин, Рыбинск, Ярославль, Горький; на Шексне – Череповец; на Оке – в районе Калуги, у г. Озёры [157–164].

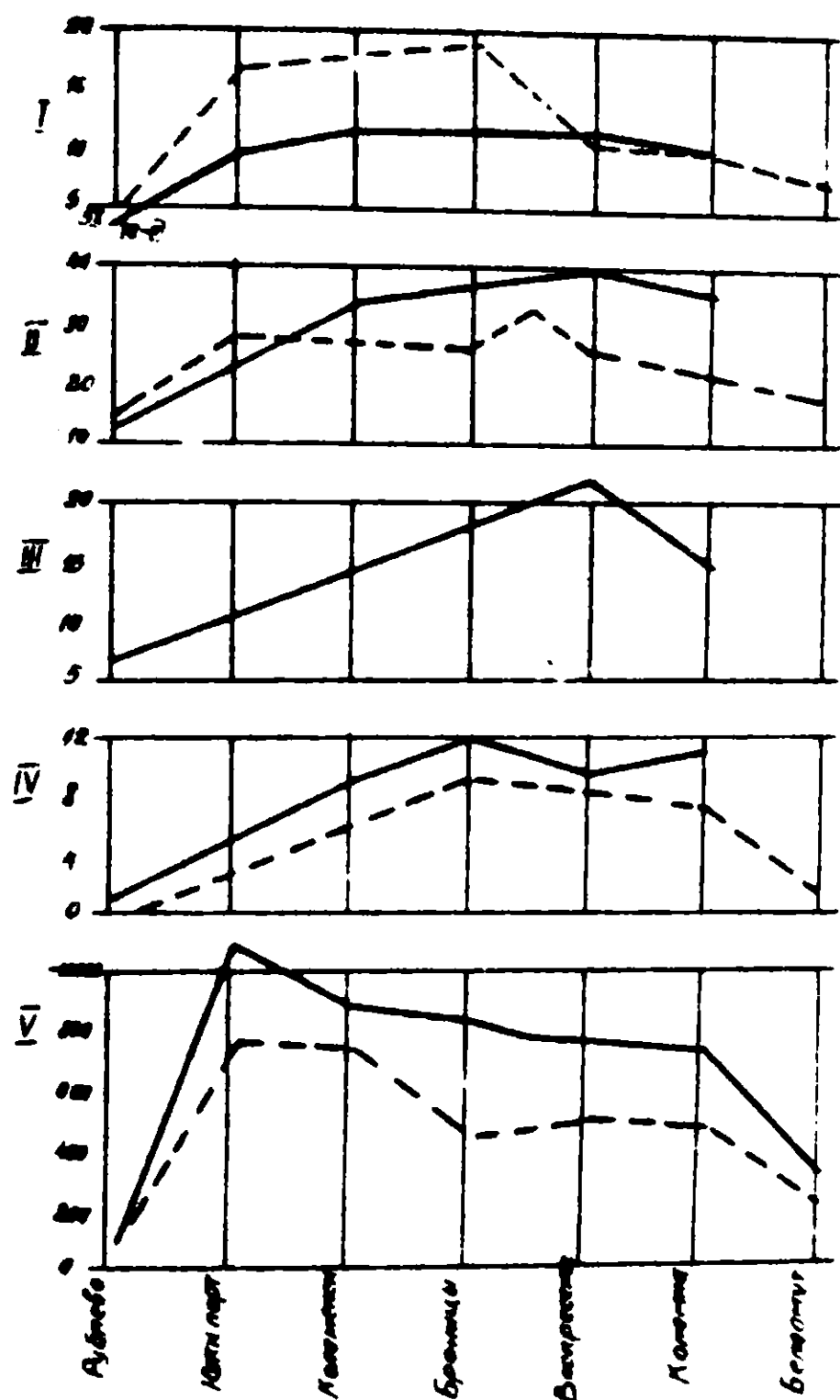


Рис.10. Изменение некоторых показателей химического состава вод и интенсивности флуоресценции на участке рек Москвы и Оки. Исследования 1964 г. Показатели химического состава: I – перманганатная окисляемость в мг/л O_2 ; II – бихроматная окисляемость в мг/л O_2 ; III – органический углерод в мг/л C; IV – азот аммонийный в мг/л, V – интенсивность флуоресценции в единицах шкалы флуорометра ЭФ-3М.

В самых неблагоприятных условиях находятся бассейны малых рек Москвы (реки Клязьмы), водные ресурсы которых используются в максимальной степени. Основная особенность загрязнения малых рек состоит в том, что химические вещества промышленных и бытовых стоков при небольшой кратности разбавления их чистыми водами реки (водоёма) распространяются на значительные расстояния от источников загрязнения. Так, например, высокая интенсивность флуоресценции вод Москвы-реки прослеживалась на всём её протяжении, от Южного порта столицы до Коломны (рис.10) [55].

Значительные изменения в составе речных вод, в том числе и в изменении люминесцентных свойств, возникают непосредственно у мест выпусков сточных вод (табл. 26). Наиболее значительные количества люминесцирующих соединений поступают в воду с предприятиями химической,

нефтеперерабатывающей и коксохимической промышленности. В табл.25 представлены данные о содержании тяжелых фракций нефтепродуктов, содержащихся в стоках городов и промышленных узлов Центрального промышленного района. Среди люминесцирующих веществ, поступающих

Таблица 25

Содержание тяжелых фракций нефтепродуктов (мг/л) в стоках городов, промышленных узлов Центрального промышленного района и в воде загрязненных ими водоемов (1964-67 гг.)

Время обследо- вания	Города, пред- приятия	Источник загрязне- ния	Содержание (мг/л)		Станции
			в сто- ке	в воде реки	
август 1964г.	г. Кали- нин	Городской коллектор	3,14 5,78	2,31 0,56 1,25	р. Волга, нефте- база, Власьево, Горохово
июнь 1966г., март 1967г.	г. Ры- бинск	Городской коллектор	3,16 11,19	0,44 0,37	Русло, ниже города 6 км.
июнь 1966г.	г. Яро- славль	Городской коллектор	8,31 5,23	0,58 0,31	Выше НПЗ
август 1966г.	Ново- ярослав- ский НПЗ	5-я секция буферного пруда	5,22 6,89	0,48 0,73	Ниже НПЗ 3 км.
август 1966г.	г. Горь- кий, Ново- горьков- ский НПЗ	Городской коллектор, промсток	2,37 8,1	0,53; 1,14	Ниже 3 км промстока
май 1967г.	Черепе- вецкий метал- лургиче- ский ком- бинат	Сток пламо- на-копителя Среднесмен- ный сток в р. Серовку Среднесмен- ный сток в р. Конту Городской коллектор после очистки	5,33 14,10 13,34 19,07 10,64	0,59 0,38 0,61 0,70 0,58 0,99 0,31	р. Шексна, ниже городского коллектора (русло) Левый берег Правый берег У Луковец
август 1965г.	г. Дзерж- инск	Бабинский сток	8,63 19,10	0,60 0,22	р. Ока (10 км ниже стока); левый берег; правый берег.

Предприятия центрального промышленного района, загрязняющие водоемы Ленинского-
рубинского веществами (1964 - 1969 гг.)

Время обследо- вания	Населенные пункты и загрязняемые ими водоемы	Очистные соору- жения	Количество сто- чных вод, м ³ /сутки	Ленинские соединения	Интенсивность фито- ресечения		Приме- чание
					ультрафио- лет.область	видимая область	
Май, 1965г.	Р. Москва						
	Дорогомиловский хм.зав- од им. Фрунзе	Цеховые спец сооружения	26000	Бензол, фенол и их производные, анилин	20-8С в СНСl ₃	100-150 600-900	в СНСl ₃
"- - -"	Зав. "Сложные эфиры" объединения "Моспарф- мерия"	Отсутству- ют	1800	Ароматические оком- кислоты и эфиры		5-8 30-40	"- - -"
21/II-64г. Май 1967г	Конуховская станция взрыва, г. Москва	Биологич. очистка	45000	Нефтепродукты, детер- генты, красители.	10-16	8-12 10-12	
14/VI-66г.	2. Уфа						
	3-я синтетических ду- шстных веществ, г. Калуга	отсутст- вуют	1850	Производные аромати- ческих оксик.злот, фенолы, смолы.	10-30 3-6	20-80 20-30	в СНСl ₃
17/VI-66г.	Текстильный комбинат, г. Усеры	Механическ. очистка	24000	Красители, детергенты, оптические отбеливатели.	-	8-15	
19/VI-65г.	Химический комбинат, г. Изеримск	Специальная 7 озер-от- стойников	400000 (1965г) 1000000 (1969г)	Фенолы, бензол, нафта- лины и их производные, стирол, смолистые вещ.	-	80-120	в СНСl ₃
Март 1964г IX/66г.	2. Уфа						
	Промышленный узел го- рода Калугина	Механическ. очистка, отстойники	220000	Оптические отбеливате- ли, продукты гидролиза: детергенты, красители.	25-40	10-12	
Май, 1969г	Конаковская ГРЭС	Биологич. очистка. быт. вод.	4000000	Топочный газ	0,1-0,5- -1,5	0,5	
1968г.	Череповецкий металлур- гический комбинат (на р. Шексна)	Спец. и биологич. очистка бы- товых и фе- кальных вод	463000	Химия кокса: фенолы, углеводороды и их производные. Смолы.	8-12 -54	10-12	в СНСl ₃

в водоемы, ароматические углеводороды и тяжелые фракции нефтепродуктов играют ведущую роль в общем объеме промышленного загрязнения.

Изменения люминесцентных свойств вод, возникающие в результате их загрязнения

Загрязненные воды интенсивно поглощают свет в ультрафиолетовой области спектра [260]. В результате загрязнения вод промышленными и бытовыми стоками очень часто наблюдается повышение интенсивности свечения в видимой или ультрафиолетовой области спектра. Из 177 соединений, для которых санитарными правилами № 662 от 12 января 1967 г. определены предельно-допустимые концентрации в воде водоемов санитарно-бытового водопользования, 23 соединения флуоресцируют. При этом 19 соединений обладают флуоресценцией в ультрафиолетовой области. К их числу принадлежат производные бензола: анизол, анилин, этилбензол, хлорбензол, фенол, ароматические фракции керосина и бензина, стирол, пропилбензол и др. В видимой области из числа нормируемых соединений флуоресцируют нафтоновые кислоты, углеводороды нефти, уротропин, капролактан, норсульфазол и др.

Предельно допустимые концентрации для большинства из этих соединений составляют 0,1–0,5 мг/л, этилбензол – 0,01 мг/л, анизол – 0,05 мг/л. Определению непосредственно в воде флуоресцирующих веществ на уровне их предельно допустимых концентраций мешают содержащиеся в ней флуоресцирующие вещества природного происхождения. Чем выше флуоресценция исходной природной воды и чем больше значения колебаний интенсивности свечения между отдельными образцами, тем с меньшей долей значимости может быть выделена та доля интенсивности флуоресценции, которая обусловлена внесенным загрязнением. В табл. 27 показано изменение критерия Стьюдента (доказательство разницы средних), полученное в двух водоёмах со слабой и высокой флуоресценцией вод.

В водах с небольшой интенсивностью флуоресценции (оз. Плещеево) возрастание свечения на три и более единиц является значимым, а при высокой интенсивности свечения значимо возрастание интенсивности флуоресценции на пять единиц. Следовательно, флуоресцентный контроль поступления органических веществ наиболее эффективен в случаях наблюдения за водопроводными водами, которые, как правило, обладают невысокой интенсивностью флуоресценции.

В водах открытых водоемов на флуоресценцию некоторых соединений, которые могут поступать со сточными водами, оказывают влияние окрашенные (гумусовые) вещества. Они снижают интенсивность их свечения.

Оценка (по критерию Стьюдента) разницы средних интенсивности флуоресценции вод до и после загрязнения их флуоресцирующими органическими веществами

Место проведения исследования	Колебания интенсивности флуоресценции до загрязнения воды	Увеличение интенсивности на загрязнен. участке	Критерий Стьюдента
оз. Плещеево у в'хода загрязненных вод р.Тру-бех	25-32 Критерий значимо-сти при 95% досто-верности 2,23	+ 1	0,92
		+ 2	1,85
		+ 3	2,77
		+ 4	3,70
		+ 5	4,62
		+ 6	5,55
		+ 7	6,48
Канал Камаковской ГРЭС у городского стока	160-170 Критерий значимо-сти при 95% досто-верности 2,10	+ 1	0,44
		+ 2	0,88
		+ 3	1,32
		+ 4	1,76
		+ 5	2,13
		+ 6	2,56
		+ 7	3,00

Увеличение интенсивности флуоресценции ниже выпусков сточных вод, определяемое на флуорометре, показывает наличие в воде некоторой суммы флуоресцирующих веществ. Образующийся прирост свечения, которое приходится на один градус цветности, исследуемой воды водоёма до и после её загрязнения сточными водами.

В.Е. Синельников (1957, 1960)² приводит данные связи между показателями санитарного анализа и интенсивностью люминесценции, полученными при обследовании большого количества различных водоисточников населенных пунктов Киргизской ССР. Данные по интенсивности флуоресценции вод из различных питьевых источников сопоставляли с общепринятыми показателями качества воды: перманганатной окисляемостью, БПК₅, колититром, общим числом бактерий на МПА.

В табл. 29 приведены показатели оценки коррелятивной связи [192] между интенсивностью флуоресценции и отдельными показателями санитарного анализа.

Наиболее высокая достоверность между интенсивностью флуоресценции и окисляемостью, цветностью и количеством бактерий получена для артезианских и родниковых вод, которые использовались в

качестве источников централизованного водоснабжения. Малая значимость связи между флуоресценцией и количеством бактерий на МПА сказывается на рекомендациях использовать для определения интенсивности флуоресценции как показателя качества воды тот факт, что эту величину, как правило, выражают в единицах шкалы флуорометра или произвольного стандарта, а не в единицах концентрации, в которых выражено большинство показателей санитарного анализа воды.

Таблица 28

Изменение интенсивности флуоресценции некоторых соединений, поступающих в водоём с бытовыми и промышленными стоками, в дистиллированной воде и растворе фульвокислоты (измерения на флуорометре ЭФ-3М)

Соединение	Интенсивность флуоресценции 100 мг люминесцирующего вещества (светофильтр 400-580 мкм)	
	в дистилли- рованной воде	в водном растворе фульвокислоты, цвет- ность раствора 500
Фульвокислота	700	-
Гуминовая кислота	250	-
Дептон (с продуктами гидролиза)	500	50
Дептон х.ч.	25	0,5
Источные воды в стократном раз- бавлении:		
Косбережская станция аэрации (г. Москва)	35	15
Пурьяновская станция аэрации (г. Москва)	20	10
Триптофан	25	0,7
Тирозин	13	0,2
Моторное топливо	300	250
Соллярное масло	450	425
Метилэтилпиридин	5	1

В тех случаях, когда люминесцентный контроль используют для оценки качества воды конкретного источника водоснабжения, например, артезианской скважины, данные по интенсивности флуоресценции можно проградировать по перманганатной окисляемости или пользуясь методом определения содержания окрашенного органического вещества в зоне капиллярного поднятия.

Таблица 29

Оценка коррелятивной связи между интенсивностью флуоресценции и основными показателями санитарного анализа (по материалам обследования 1955-1957 гг., Киргизская ССР)

Исследованные водонсточники	Кол-во образцов	Санитарный показатель	Среднеарифметическое	Квадратическое отклонение от среднего	Ошибки среднего $m \pm \frac{s}{\sqrt{n}}$	Коэффициент вариации $v = \frac{s}{m} \cdot 100$	Доказательство разницы средних $T = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{s^2}{n} + \frac{s^2}{m}}}$	Коэффициент корреляции $R = \frac{\sum d + d^2}{\sqrt{\sum d^2 + \sum d^4}}$
Чистые воды артезианских скважин, родников, пригодные к употреблению	242	Окисляемость перманганат. Цветность	1,5	$\pm 0,6$	$\pm 0,14$	40	7,3	0,56
		Кол-во бактерий на МПА	4,7	2,4	0,34	51	6,3	0,42
			291	± 350	$\pm 42,6$	120	2,91	0,37
Грунтовые воды верхних горизонтов (колодцы), пригодные к употреблению после очистки и обеззараживания	507	Окисляем. перманг. Цветность	2,9	$\pm 1,54$	+0,13	53	5,14	0,44
		К-во бакт. на МПА	9,2	$\pm 2,15$	$\pm 0,62$	23	0,62	0,28
			1230	± 1240	± 344	108	0,74	0,21
Воды этих же источников с большим содержанием органических веществ	234	Окисляем. перманг. Цветность	5,8	$\pm 4,21$	$\pm 0,55$	72	1,61	0,41
		Кол-во бактерий на МПА	9,7	$\pm 3,98$	$\pm 0,51$	41	3	0,58
			18,59	± 3860	± 775	207	1,9	0,29
Воды поверхностного стока: речистельные каналы, арки, реки	201	Окисляем. перманг. Цветность	4,9	$\pm 8,5$	$\pm 0,3$	173	2,76	0,32
		К-во бакт. на МПА	11,8	+3,54	+0,59	30	3,78	0,34
			4460	± 3250	± 1140	72	2,94	0,21

Тушение люминесценции природных вод как показатель их загрязнения

Люминесцентные характеристики флуоресцирующих веществ чувствительны к межмолекулярным воздействиям всех типов: реакции среды, факторам, влияющим на агрегатное состояние молекул, процессам комплексообразования [104, 126]. Снижение интенсивности флуоресценции — одно из проявлений таких межмолекулярных воздействий. Необходимо различать снижение интенсивности, связанное с физическим разменом энергии — физическое тушение и снижение интенсивности, возникающее в результате химического взаимодействия между молекулами — тушение, снижение интенсивности флуоресценции в результате экранирующего действия примесей. Тушение флуоресценции возникает в водах под влиянием воздействия сточных вод. Как видно из табл. 30, тушение происходит в сточных водах наиболее часто.

Таблица 30

Частота тушения флуоресценции в водах различного происхождения

Количество исследованных образцов (всего)	Образцы, в которых отмечено явление тушения				
	всего образцов	водопроводы и арт. скважины	открытые водоёмы	колодцы	сточные воды
946	134	0	41	56	37
% 100	14,1	0	25,4	11,4	100

Наиболее частая причина тушения в водах открытых водоёмов — взвешенные и окрашенные вещества. В мутной воде изменяется не только интенсивность свечения, но и цветовой тон. Взвешенные частицы поглощают ультрафиолетовое излучение, возбуждающее флуоресценцию растворённого в воде органического вещества и рассеивают ту часть видимого света, которую в незначительном количестве пропускает кобальто-никелевый светофильтр.

Связывается ли физическое тушение на химическом превращении веществ? Смысл тушения состоит в том, что примесные вещества отбирают энергию электронно-возбуждённого состояния от молекулы, поглотившей определённое количество энергии (Баренбойм и соавторы, 1966; Свешников, 1938)⁴. В возбуждённом состоянии молекула химически активна. Она обладает повышенной реакционной способностью. Но под влиянием примесей молекула не переходит в возбуждённое состояние, а растрачивает поглощённую энергию на колебательно-враща-

⁴ См. также: Свешников, 1938.

тельное движение, т.е. переводит её в тепло. Химический смысл явления тушения состоит в том, что тушение служит выражением более низкой химической активности. Тушащие вещества предохраняют люминесцирующие молекулы от распада, затрудняют их взаимодействие с другими веществами, а также участие их в окислительно-восстановительных реакциях, в реакциях полимеризации. Наиболее сильными тушителями – галогены, соли тяжелых металлов. Тушащие соединения, в отличие от ингибиторов, не вступают в химическую связь с молекулами, на которые они воздействуют. Тушение – это взаимодействие на расстоянии, энергетическое взаимодействие. Соли тяжелых металлов принимают на себя энергию возбужденной молекулы и не дают возможности использовать запасенную молекулой энергию в химической реакции. Если излучаемая молекулой энергия есть бесполезная её часть, то чем ниже квантовый выход соединения в данных условиях, тем большая часть энергии расходуется на химические превращения. Явление тушения может быть использовано как метод изучения молекулярного механизма химических и биологических превращений.

Таблица 3I

Причины тушения люминесценции в водах различного происхождения

Всего случаев тушения	В том числе случаев тушения											
	концентрационного тушения		введенными веществами		растворенным кислотам		изменением рН		растворенными примесями		активным хлором	
	к-во	%	к-во	%	к-во	%	к-во	%	к-во	%	к-во	%
184	47	27,6	9	67,9	3	2,2	89	21,7	5	3,8	8	5,8

Люминесцирующие соединения – хорошие доноры электронов или хорошие акцепторы. Если соединение обладает выраженным поглощением и люминесценцией в оптической области спектра, то оно должно быть донором или акцептором электронов. А если оно теряет способность к люминесценции вследствие тушения, то его донорно-акцепторные свойства утрачиваются. Явление люминесценции связано с внутримолекулярными электронными переходами, а окислительно-восстановительные реакции связаны с межмолекулярными электронными переходами. Переход физической энергии возбужденного состояния в химическую энергию перенесенного электрона изучается для познания первичных механизмов окисления [152] .

Люминесцентные свойства вод Москвы-реки

Москва-река относится к малым водоёмам. Протяженность реки 502 км, из них участок в 100 км проходит через г. Москву и прилегающий к ней лесопарковый пояс. В лесопарковом поясе проживает более 20% всего населения области, здесь сосредоточена значительная часть промышленности области. Формирование загрязнения Москвы-реки происходит преимущественно в границах города и в районе выпусков очищенных сточных вод станциями аэрации. Как отмечает С.М. Драчев (1964)^[5] ниже Софьинской плотины в реку не поступает стоки, которые по величине можно было бы сравнить с уровнем загрязнения в районе г. Москвы. В 1965 г. в систему городской канализации поступало 2981000 м³ сточных вод и сбрасывалось в реку без очистки 201000 м³. До настоящего времени одной из основных причин загрязнения реки в пределах города служат многочисленные ручьи и реки, которые используются как приёмники неочищенных или подвергшихся частичной очистке сточных вод. В 1966-1967 гг. количество подобных выпусков резко сократилось, однако ряд притоков (Сетунь, Таракановка, Яуза, Чура и др.) всё ещё продолжает сильно влиять на качество воды в пределах города [55]. Оптические свойства вод Москвы-реки ниже города отличаются от чистых вод верховья ниже города вода Москвы-реки имеет розовый цвет, максимум в её спектре поглощения сдвинут к 500-600 нм.

Определения цвета и яркости флуоресценции вод Москвы-реки, проведенные зимой 1964 и летом 1965 гг., показали, что основной участок реки, на котором происходит значительное поступление в водоем люминесцирующих веществ, расположен между мостом Белорусской железной дороги и Перервинским гидроузлом. Высокая яркость люминесценции оказалась и у вод, отобранных летом 1965 г. ниже Крымского и Новоспасского мостов (Синельников и соавторы, 1965)^[6]. Сложность технологических процессов, многочисленность выпусков и разнообразие производств, сбрасывающих сточные воды в Москву-реку, не дают возможности на основании химического анализа вод привязывать изменения их качества к выпускам конкретных предприятий.

Используя специфическими люминесцентными свойствами некоторых соединений, можно было выполнить серию исследований, позволяющую выяснить отдельные источники поступления в Москву-реку люминесцирующих веществ. Определялись цвета и яркость свечения вод Москвы-реки на отдельных участках в пределах города (Синельников и соавторы, 1966)^[7]. Как видно из приведенных данных, интенсивно возрастает яркость флуоресценции ниже р. Сетунь и Яузы. Цвета флуоресценции на отдельных участках реки были описаны как яично-желтый, салатный, светло-зеленый.

Известно, что, если в растворе содержится сумма люминесцирующих веществ, один из компонентов которой находится в более высокой концентрации и имеет больший выход люминесценции, по сравнению со всеми остальными соединениями, то раствор имеет цвет люминесценции, присущий этому веществу. Предстояло выяснить, чем обусловлен жёлтый цвет люминесценции вод на участке между реками Сетунь и Яузой. Более детальные измерения интенсивности флуоресценции показали, что максимальная интенсивность флуоресценции оказалась у вод р. Яузы. Высокие значения интенсивности флуоресценции обнаружены в водах, отобранных ниже Москворецкого и Новоспасского мостов. На рис. II показана интенсивность флуоресценции вод

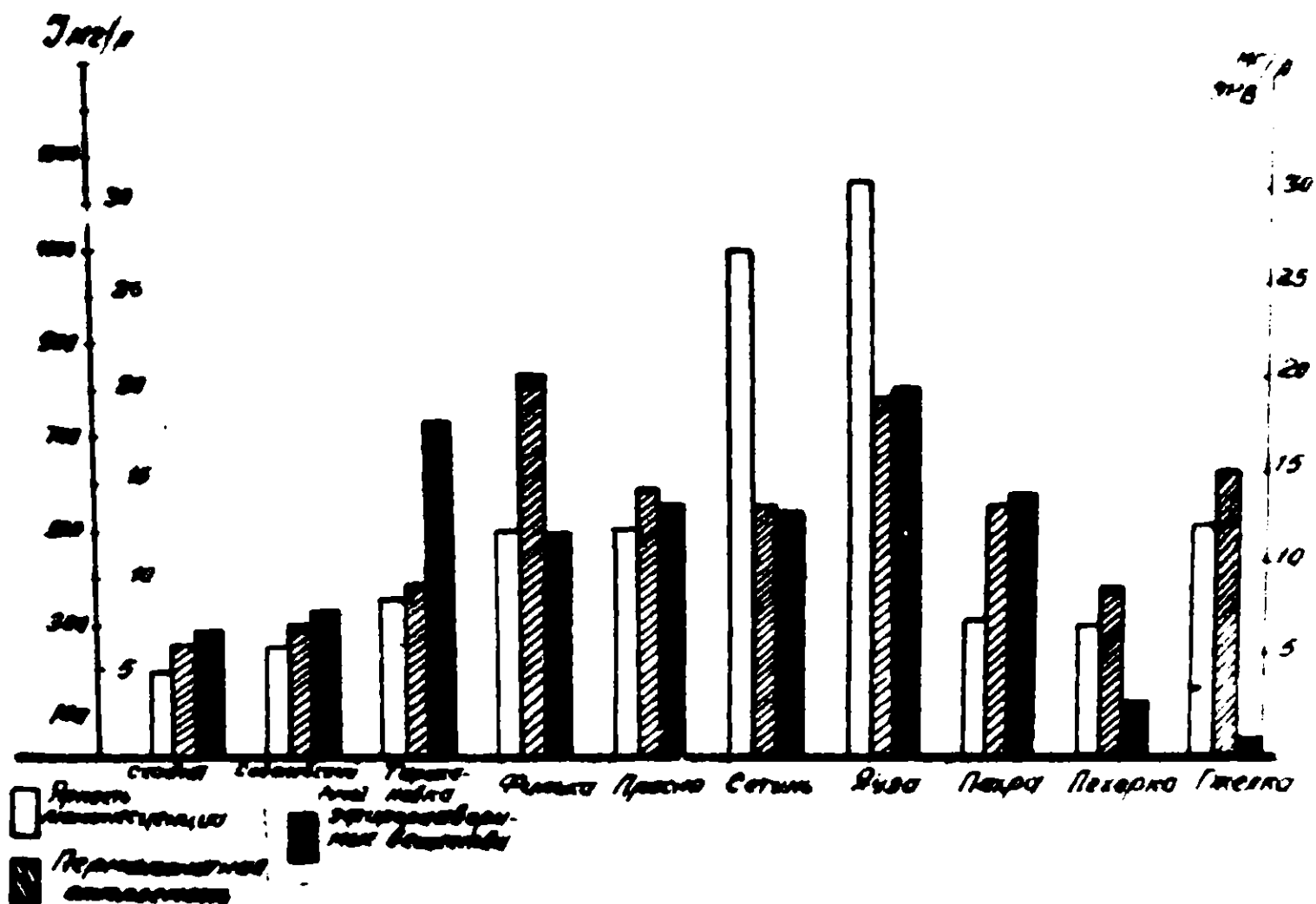


Рис.11. Некоторые показатели химического состава и интенсивность флуоресценции (I) вод притоков р. Москвы. Исследования 1985 г.

притоков Москвы-реки. Люминесцирующее органическое вещество было выделено из воды в зоне капиллярного поднятия на бумаге.

Изучение цвета люминесценции зон капиллярного поднятия на фильтровальной бумаге показало, что они имеют различные цветовые оттенки в зависимости от места взятия образцов воды (табл. 32). Как видно из таблицы, можно выделить два цветовых оттенка люминесценции органического вещества, не извлекаемого органическими растворителями из Москвы-реки: а) белый с жёлтым оттенком; б) органическое вещество, связанное с выпуском стоков Дорогомиловского химического комбината; в) жёлто-зелёный (выпуск в р. Яузу).

Суточный выпуск Дорогомиловского химического комбината в Москву-реку составлял 30000 м³. Содержание органических веществ

Люминесценция органического вещества в зоне каппа-
лярного поднятия на фильтровальной бумаге (отбор
проб произведён в мае 1965 г.)

№ пробы	Место отбора образца	Цвет люминесценции основной зоны органического вещества, сконцентрированного на фильтровальной бумаге	Яркость люминесценции в услов. ед. 34-3м	Примечание
87	Выше Сходни	Жёлто-коричневый	270	
90	У деревни Строгино	Жёлто-коричневый	150	
93	Ниже Соболевского ручья	Желтоватый	230	
97	Выше р. Сетунь	Белый с жёлтым оттенком	900	Выпуск р.Пресни
102	У Крымского моста	Белый с жёлтым оттенком	1700	Ниже выпуска Дорогомиловского химического завода
112	Выше р. Яузы	Бледно-голубой с жёлтым оттенком	1200	
114	Ниже р. Яузы	Жёлто-зелёный	1800	Выпуск р.Яузы
110	Ожный порт	Жёлто-зелёный	1100	
107	Перервинский гидроузел	Салатный Жёлто-зелёный	800	Выпуск в р.Яузу

в стоках завода — около 28 тонн в сутки. В составе сточных вод завода находятся ароматические углеводороды, смолы, красители анилино-красочного производства, обуславливающие высокую яркость люминесценции его вод.

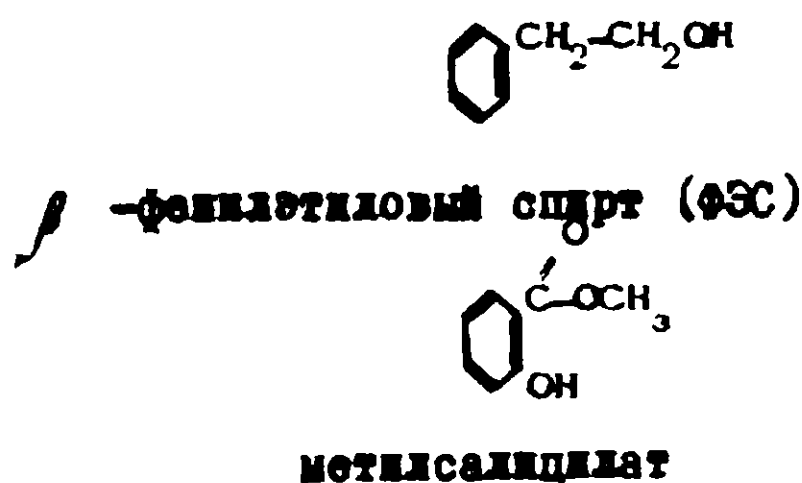
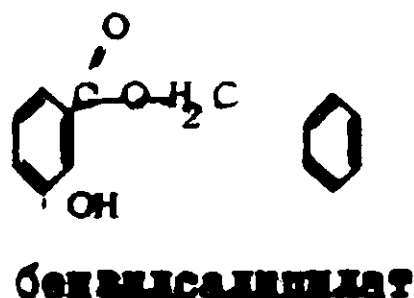
Яркость люминесценции сточных вод завода составляла 7200 условных единиц по шкале флуорометра ФФ-3М. Основными источниками поступления люминесцирующих веществ в производственный выпуск оказались цеха № № 1, 9, 13 и др.

Характер люминесценции сточных вод Дорогомиловского химического завода имел некоторые особенности, которые заключались в том, что свечение люминесцирующих веществ в зоне капиллярного поднятия на бумаге оказалось более ярким, чем в водном растворе.

Другим источником поступления люминесцирующих веществ в реку Москву оказались сточные воды завода сложных эфиров объединения "Московская парфюмерия". Основной сток этого завода в объеме 1800 м³ в сутки поступал в канализацию, но в конце 1964 г. и весной 1965 г. имели место непредвиденные сбросы.

Сточные воды производства душистых веществ обладают весьма яркой люминесценцией. В них присутствует ряд сильно люминесцирующих соединений: стеараты кальция и цинка, метилантранилат, метилсалицилат, бензилсалицилат, фенилэтиловый спирт, антрахионовая кислота, изоамилсалицилат, фенилацетальдегид [9].

Ниже представлены формулы отдельных соединений синтеза душистых веществ:



Бензилсалицилат обладает в растворах исключительно яркой люминесценцией небесно-голубого цвета. —фенилэтиловый спирт имеет также голубую яркую люминесценцию, а метилсалицилат — синюю люминесценцию. Извлекаются они из воды эфиром и спиртом.

Измерение яркости люминесценции сточных вод производства синтетических душистых веществ показало, что яркость их люминесценции зависит от концентрации водородных ионов. До нейтрализации при

pH 4,0 сточные воды не люминесцировали, а после их нейтрализации при pH 7,5–8,0 появлялась зелёная, а в некоторых образцах вод жёлтая люминесценция.

Следующий район резкого подъёма яркости люминесценции вод отмечен при впадении р. Яузы в Москву-реку.

Яркость люминесценции неразбавленных вод этого района в 12–16 раз выше, чем яркость люминесценции вод у Рублёва, а при разбавлении исследуемой воды дистиллированной водой яркость оказалась в 36–40 раз выше, по сравнению с люминесценцией вод у Рублёва. Выделенное путём концентрирования в зоне капиллярного поднятия на бумаге органическое вещество при дневном освещении имело коричневый цвет и люминесцировало светло-зелёным, салатным цветом.

При дополнительном разделении этого вещества на фракции с помощью эталона на фильтровальной бумаге получено несколько зон с разными цветами люминесценции: розовым, зеленоватым, голубым (R_f 0,95). Основная зона, оставшаяся на старте, имела зелёный цвет люминесценции (R_f 0,00), несколько выше (R_f 0,15) появилась розовая зона. При сравнении цветов свечения исходных люминесцирующих веществ, не извлекаемых органическими растворителями, выяснилось, что яркой голубой люминесценцией обладают оптические отбеливатели, а зелёными и красными цветами люминесцируют некоторые красители.

В реку Яузу сбрасывает сточные воды Мытищинский комбинат и другие предприятия легкой промышленности. Кроме красителей с производственными стоками этих предприятий, в Яузу поступают вещества, применяемые при оптическом отбеливании тканей и готовых изделий (производные стильбена, кумарина, имидазола, оксазола). В воде реки Москвы обнаружена достаточно интенсивная флуоресценция в ультрафиолетовой области спектра.

Вещества, люминесцирующие в ультрафиолетовой области спектра, извлекаются из воды хлороформом [239]. Интенсивность свечения экстрактов из образцов, отобранных на загрязнённых участках Москвы-реки была в три раза выше, чем самих вод до экстракции. Интенсивность ультрафиолетовой люминесценции после извлечения хлороформорастворимых веществ снижается на 60–70% (табл.33).

Интенсивность флуоресценции вод р. Москвы ниже города в 42 раза ярче, чем на чистом участке реки у Рублёва. По выходе из города интенсивность флуоресценции снижается на 20%, но остаётся на достаточно высоком уровне на всём протяжении Москвы-реки вплоть до впадения в р. Оку. Основным источником флуоресценции в ультрафиолетовой области спектра служат ароматические углеводороды, легко выделяющиеся из воды органическими растворителями. Высокая интенсивность люминесценции в ультрафиолетовой области спектра характерна для стоков коксохимического производства и нефтеперера-

батирующей промышленности. В ультрафиолетовой области спектра люминесцируют моноциклические и бициклические ароматические нафто-воароматические углеводороды, частично некоторые трициклические нафтовоароматические углеводороды. Их производные с короткими боковыми парафиновыми и олефиновыми цепями. Яркость люминесценции природной воды в ультрафиолетовой области спектра составляла

Таблица 33

Интенсивность видимой и ультрафиолетовой люминесценции
вод реки Москвы в пределах города.
Май, 1965 г.

Место отбора пробы	Интенсивность ультрафиолетовой люминесценции, измеренной в единицах шкалы УО-1			Интенсивность люминесценции видимой области
	Образец воды до обработки CHCl_3	Хлороформенный слой	Водный слой	
Рублёво	2	3	2	55
Выше р. Сходни	5	5	2	200
Ниже р. Сходни	17	9	7	210
Ниже Соболевского ручья	10	21	3	230
Ниже моста Белорусской железной дороги	12	27	4	280
Ниже р. Сетунь	19	69	13	900 ж
Ниже р. Яузы	53	158	17	1200 ж
Перервинский мост	84	240	24	730 ж
Софьино	61	139	18	450 ж

ж) В пробах отмечено тухление.

4-20 единиц по шкале флуорометра УО-1. В водах с более высокой цветностью ($50-70^0$) интенсивность флуоресценции была ниже, чем в малоцветных образцах воды ($20-35^0$). Люминесценция в ультрафиолетовой области спектра (300 нм) растворов фульво- и гуминовых кислот из дерново-подзолистой почвы отсутствовала. Люминесценция в ультрафиолетовой области характерна для бесцветных или слабоокрашенных соединений. Гумусовые вещества, сильно поглощая ультрафиолетовое излучение, исходящее от других соединений, являются тушителями люминесценции в этой области спектра.

Определение отдельных соединений, поступающих в водоём со сточными водами

В определенных отдельных соединениях, загрязняющих водоёмы, используют их способность светиться (ароматические углеводороды, нефтепродукты, красители, продукты окисления целлюлозы [49, 61] или образовывать комплексы, обладающие специфическим цветом свечения (инсектициды, цианиды) [237, 248]. В результате реакции цианидов с хинон-моноксим-бензол-сульфонатом в растворе диметилсульфоксида образуется флуоресцирующий продукт. Чувствительность реакции - 0,5 мкг в определении. Определение формальдегида основано на образовании флуоресцирующего продукта в результате реакции этого соединения с ацетилацетоном и аммиаком. Чувствительность реакции - 0,4 мкг в определении. Ароматические альдегиды и кетоны обладают собственной флуоресценцией [60]. Краткий обзор методов флуоресценции и фосфорометрии при определении веществ, применяемых в промышленности, написан Снеллом и Хилтоном [298].

Оправдывает себя комбинирование люминесцентного анализа с другими физико-химическими методами. Драшел и Коммерс (Drushel, Kommer, 1966)* в предлагаемом ими методе определения отдельных нефтяных фракций использовали флуоресцентный анализ в сочетании с газовой хроматографией. Клевенс (Klevens, 1950) ** изучил возможность определения поверхностно-активных веществ методом флуоресцентного титрования. Анионоактивные моющие средства титровали раствором эозина, небесно-голубым FF. Катионоактивные детергенты титровали раствором бензопурпурина. Концентрация детергентов в растворе составляла $1 \cdot 10^{-5}$ моль. Точность определения - 2-3%. Для качественных определений люминесцентный метод использован для обнаружения в сточных водах антибиотиков, мономеров СК. Разработаны флуоресцентные методы определения металлов в воде (Боневольнов, 1966) **.

Широкое применение получил флуоресцентный метод определения урана [57]. Поскольку этим методам посвящены обстоятельные, недавно вышедшие монографии, в этой работе они не приводятся.

Наиболее интересным приёмом в люминесцентном анализе органических веществ представляется флуоресцентное сканирование. Метод флуоресцентного сканирования настойчиво развивает Сависки с большой группой соавторов (Sawicki a. oth., 1965; Sawicki a. oth., 1964)*. С помощью этого метода автору удалось определить присутствие в воздухе большой группы канцерогенных веществ. Здесь уместно более подробно остановиться на методе флуоресцентного сканирования. Флуоресцентное сканирование - это заключительный этап определения конкретных соединений, которому предшествует концентрирование их и выделение на хроматографической бумаге, а затем разделение на отдельные фракции.

Капиллярный метод определения красителей, содержащихся в загрязненных водах. Люминесцентные свойства красителей

Возрастающий рост производства красителей [41] сопровождается увеличением их содержания в водоёмах [209, 263]. Красители содержатся в сточных водах химической и текстильной промышленности. Количественный и качественный состав красителей в стоках весьма разнообразен. Люминесцирующие красители (среди них много кубовых) в растворе или в адсорбированном на твёрдом носителе состоянии имеют спектр с хорошо выраженной структурой [95-97].

Цветовые оттенки люминесценции красителей в растворе и в адсорбированном состоянии различны. Кроме того, некоторые красители (производные анилина) люминесцируют только в адсорбированном состоянии или при замораживании жидким азотом и не люминесцируют в растворе при комнатной температуре. Порог обнаружения люминесцирующих красителей в зоне капиллярного поднятия на бумаге выше, чем в растворе.

Минимальные количества оптинола, обнаруживаемые в воде с цветностью 65° , составляют 0,5 мкг/л. Эта концентрация оптинола увеличивает яркость люминесценции природной воды на десять единиц. В зоне капиллярного поднятия обнаруживается 0,005 мкг оптинола в определении. Ярко-красный хромовый кислотный краситель в адсорбированном состоянии обнаруживается до 0,05 мкг в определении. Многие кубовые красители, не люминесцирующие в растворенном и адсорбированном состоянии, начинают светиться при температуре жидкого азота.

Для выделения из воды красителей пользовались следующим приёмом: 20 мл исследуемой воды наливали в стеклянную трубку длиной 2,5 см со скошенным концом. Трубку переворачивали и укрепляли в перевёрнутом виде в термостате. Свободный конец трубки опускали в стаканчик объёмом 20-30 мл. Поддерживалась постоянная температура -50° . Небольшое количество воды вытекало из склянки в стаканчик, и образовывался водяной замок - слой воды около 1 см, который не позволял вытекать воде, содержащейся в склянке. В этот же стаканчик опускали полоску хроматографической бумаги размером 0,7 x 20 см. Полоску в вертикальном положении укрепляли на штативе. Для удаления содержащихся в бумаге окрашенных примесей (продуктов деструкции целлюлозы) бумагу предварительно промывали дистиллированной водой. Вода из стаканчика поднималась по бумаге, а новые её порции поступали в стаканчик из склянки. При этом уровень воды в стаканчике оставался постоянным. В некоторых опытах для ускорения испарения скорость движения воздуха регулировали вентилятором, который устанавливали на расстоянии трех метров от штатива с образцами. Оптимальными при комнатной температуре ока-

записи условия, при которых скорость движения воздуха достигала 0,5-1,0 м/сек. При этом в ряде случаев происходило отделение некоторых красителей от гумусовых веществ, содержащихся в воде открытых водоемов, которые загрязнялись стоками обследованных предприятий. При более интенсивном потоке воздуха (2,0 м/сек) испарение с бумаги резко усиливалось, концентрирование веществ на полоске происходило непосредственно у края стаканчика, а разделить их не удавалось.

Таблица 34

Люминесцентная характеристика красителей в стоках одного из цехов хлопкопрядильной фабрики

Наименование красителей	Люминесценция	
	В растворе	В зоне капиллярного поднятия
Кислотный синий 2Б	Нет	Нет
Кислотный ярко-красный хромовый	Фиолетово-красный	Розовый
Прямой алый	Нет	Нет
Прямой чистоголубой	Нет	Нет
Дромалин розовый	Нет	Нет
Катионный желтый	Желтовато-зеленый	Желтый
Оптинол	Сине-голубой	Белый
Анилиновый желтый	Нет	Ярко-желтый

Длительность концентрирования составляла 12-14 часов. Зона капиллярного поднятия на бумаге имела серый или чёрный цвет, обусловленный смесью красителей, которые содержатся в воде. При исследовании более простых по составу цеховых вод зона капиллярного поднятия окрашивалась в цвет красителя, содержание которого в стоке в несколько раз превышало концентрацию других красящих веществ.

Дополнительно ставили контрольный опыт с дистиллированной водой. Одновременно можно проследить выделение красителей из 12-18 образцов вод. Воду предварительно освобождали от взвесей. В специальном опыте было выяснено, что минимальные количества красителей, обнаруживаемых по цвету полоски в зоне на бумаге, составляют 0,25-10 мкг в определении.

Вместе с красителями в зоне капиллярного поднятия на бумаге концентрировались и минеральные соединения. Иногда они выступали на поверхности бумаги в виде блестящих кристаллов. Для отделения зоны красителей от других мешающих определению соединений пользовались дополнительным разделением веществ селективными растворите-

Результаты денситометрии отдельных красителей в зоне капиллярного поднятия. Денситометр ДФЗ-10

Концентрация красителя, мг	Оптическая плотность в единицах шкалы ДФЗ-10			
	Вофоламовый чёрный	Хромслан розовый	Тёмно-коричневый, сернистый	Кислотный синий
0,00025	0,01	ниже определяемого	0,01	0,015
0,0005	0,02	0,005	0,02	0,02
0,0010	0,04	0,01	0,035	0,03
0,0020	0,08	0,02	0,055	0,04
0,0040	0,19	0,05	0,16	0,09
0,0080	0,37	0,08	0,34	0,14
0,0160	0,76	0,16	0,61	0,33

Результаты флуорометрии отдельных красителей в зоне капиллярного поднятия на бумаге. Флуорометр "Анализ-1"

Концентрация красителя, мг	Интенсивность флуоресценции в единицах шкалы флуориметра			
	Дисперсный жёлтый 6 "3"	Кислотный ярко-красный хромовый	Катионный жёлтый	Анилиновый жёлтый
0,00025	9	24	12	5
0,0005	20	50	25	9
0,0010	38	94	48	20
0,0020	78	190	100	42
0,0040	150	380	200	85
0,0080	300	720	360	160
0,0160	580	1500	740	300

лями: ацетоном или пиридином. Нижний конец полоски отрезали: от краёв её до зоны осталось 3-4 см. Полоску на несколько сантиметров погружали в растворитель. Полное отделение красителей, растворимых в ацетоне или пиридине, осуществлялось за 6-8 часов.

Обнаружена зависимость между концентрацией отдельных красителей в зоне и их оптической плотностью (табл. 35). Для денситометрии полоску предварительно пропитывали глицерином, так что она становилась прозрачной.

Люминесцирующие красители и оптические отбеливатели количественно определяли с помощью флуорометра "Анализ-1". Содержание люминесцирующего вещества в зоне было связано с интенсивностью его флуоресценции (табл. 36). Рассмотрим распределение окрашенного вещества на полоске бумаги, извлеченного из воды р. Нары ниже выпуска Наро-Фоминского водкового комбината. Были выделены 3 зоны: 1 - черного цвета (не люминесцирующая) с положительной реакцией на железо и кальций; 2 зона - фиолетовый краситель. Между зонами 1 и 2 располагалась неокрашенная зона, люминесцирующая голубым цветом и окрашивающаяся липофильными красителями. Основное количество красителей сконцентрировано в зоне 3 шириной 17 мм, состоящей из смеси красителей и оптических отбеливателей.

При сопоставлении ширины окрашенной зоны с концентрацией красителя в растворе было обнаружено, что между этими показателями существует зависимость, описанная уравнением адсорбции Фрейндлиха, выражающим зависимость адсорбции растворенных веществ от концентрации:

$$\frac{x}{m} = K \cdot C_p^{\frac{1}{n}}$$

где x - количество молей адсорбированного вещества; m - навеска адсорбента в граммах; C_p - равновесная концентрация, моль на литр. Уравнение было использовано для определения концентрации красителей, сконцентрированных в зоне капиллярного поднятия:

$$C = a \cdot M^{-1}$$

где C - концентрация красителя в мг; a - коэффициент пропорциональности; M - ширина окрашенной зоны в мм. Значение a найдено методом наименьших квадратов по двадцати красителям:

$$y = \frac{\sum \lg x \sum \lg y - N \sum \lg x \lg y}{N \sum \lg^2 x - (\sum \lg x)^2}$$

где \sum - сумма ряда от 0 до i $\lg x$; N - длина ряда; x - ширина зоны в мм; y - концентрация красителя в мг. Значения a в наших определениях колебались от 0,0063 до 0,0011. Оно связано с характером красителей, их субстантивностью. Определение смеси красителей по ширине зоны может быть использовано как полуколичественный метод в водах, загрязненных стоками текстильных предприятий. Ошибка определения при $a = 0,0038$ составляет 45%.

Полуконденсированные ароматические углеводороды

Методы определения ароматических углеводородов разрабатываются в двух следующих направлениях: для первого направления характерно разделение смеси флуоресцирующих веществ на бумаге или пластике и качественное и количественное их определение по спектру, цвету и интенсивности свечения. Эта группа методов разработана Зависким^[4] и Барнетом^[5]. Вторая группа методов основана на способности ароматических углеводородов в замороженном состоянии образовывать спектры с хорошо выраженной структурой.

Сависки и Джонсон (1964) ^ж обнаружили, что люминесцирующие фракции ароматических углеводородов после разделения их на пластике и обработки парами трифторуксусной кислоты изменяют цвет своего свечения. Пятна флуоресцирующих соединений светятся изумрудно-желтым, розовым, оранжевым цветами. Другие соединения, например, ароматические амины, после обработки парами кислоты не обнаруживают изменений свечения. Они флуоресцируют голубым цветом.

Интерес к определению ароматических углеводородов во внешней среде возник в связи с канцерогенным действием некоторых из этих соединений [222, 223]. Ароматические многоядерные углеводороды, растворенные в нормальных парафинах при температуре жидкого азота, дают спектр флуоресценции, который состоит из ряда узких линий (эффект Шпольского). Хотя не все производные ароматических углеводородов обладают тонкой структурой и анализ по этому признаку не универсален, по месту подсчета полос в спектре можно идентифицировать отдельные соединения.

В работе П.П. Дикун [50] приведены результаты изучения тонкой структуры спектров флуоресценции 21 соединения главным образом различных производных 1,2-бензантрацена. Малейшие изменения в структуре молекулы, достигаемые введением в нее замещающих групп, перемещение их или замена одних групп другими приводит к появлению новой структуры спектра флуоресценции, отличающейся от структуры исходного вещества.

При использовании эффекта Шпольского для аналитических целей важен правильный выбор растворителя, так как обычно в каком-либо одном растворителе тонкая структура бывает выражена значительно лучше, чем в остальных растворителях. Методы определения ароматических углеводородов (в том числе 3,4-бензпирена) излагаются в работах Агиной и Минца (1966, 1968) ^ж, Горталлума и Дикун (1958) ^ж, Трахтмана и Маниты (1966) ^ж, Самойловича и Редькина [145]. В качестве внутреннего стандарта предлагают отдельные углеводороды.

Е.П. Агина и И.М. Минц (1966) сопоставили отдельные приемы определения 3,4-бензпирена. Сравнительное использование трех растворителей н-гексана, н-гептана и н-октана подтвердило преимущество н-октана. Проверены условия применения в качестве внутреннего стандарта 1,12-бензперилена. При фотографировании спектров флуоресценции растворов, содержащих одновременно 3,4-бензпирен и 1,12-бензперилен, обнаружено, что высокие концентрации последнего вызывают сильное тушение или даже полное исчезновение флуоресценции 3,4-бензпирена. Тушение 3,4-бензпирена становится заметным при концентрациях 1,12-бензперилена более 1 мкг/мл. При концентрациях 1,12-бензперилена, не превышающих 0,5 мкг/мл, тушение не обнаружено.

Сопоставлен также ряд аналитических пар линий для определения 3,4-бензпирена в двух принципиально отличающихся друг от друга вариантах методики:

а) с использованием в качестве эталона сравнения линии ртути 390,6 мкм,

б) с применением в качестве внутреннего стандарта 1,12-бензперилена.

В первом варианте опробованы две пары линий 403/390,6 мкм и 408,5/390,6 мкм. Установлено, что линия 408,5 мкм не только значительно слабее линии 403 мкм и проявляется в спектре при более высоких концентрациях 3,4-бензпирена, но обладает и меньшей концентрационной чувствительностью, что приводит к более высокой погрешности анализа. Во втором варианте также опробованы две пары линий 403/406,3 и 403/419,6 мкм.

С точки зрения погрешности анализа обе пары линий оказались равноценными, а поскольку линия 406,3 мкм расположена значительно ближе к линии 3,4-бензпирена, целесообразнее её использовать в качестве линии сравнения. При построении градуировочных графиков установлено, что точки, соответствующие растворам с концентрациями 1,12-бензперилена более 1 мкг/мл, расположены ниже остальных и заметно отклоняются от графиков, что свидетельствует о наличии тушения.

Использование в качестве стандарта линии ртути 390 мкм позволяет определить бензпирен в концентрациях 0,002–0,05 мкг/мл. Средняя квадратическая относительная погрешность однократного анализа – 26%. Обнаруженное авторами тушение флуоресценции 3,4-бензпирена делает необходимым контроль за содержанием в образцах 1,12-бензперилена. При определениях 3,4-бензпирена концентрация 1,12-бензперилена должна превышать 0,5 мкг/мл. Для фотометрирования предлагается использовать следующие две пары аналитических линий 406,3/390,6 мкм и 419,6/390,6 мкм. Интервал концентраций, определяемых по первой паре линий от 0,05 до 2 мкг/мл, а по второй паре линий – от 0,02 до 1 мкг/мл. Линия 406,3 мкм расположена ближе к линии сравнения и удобнее для фотометрирования. Для контроля за содержанием 1,12-бензперилена (при определении 3,4-бензпирена) достаточно использовать линии 406,3 мкм.

Вышеизложенный метод использован К.П. Ершовой и Н.М. Мицкем [63] для спектрально-флуоресцентного определения 1,2-бензантрацена в сточных водах нефтехимических производств. В качестве аналитической взята линия 384,6 мкм. Эталонном сравнении служила линия ртути 390,6 мкм. Для построения градуировочных графиков готовили серию стандартных растворов с концентрацией 1,2-бензантрацена 0,25–5,0 мкг/мл. На пластинке вместе со спектрами стандартных растворов или анализируемых проб делают ряд снимков рассеянного света

**Сравнительная канцерогенная активность арома-
тических углеводородов**

Название соединения	Канцерогенная активность	Эмпирическая формула
Антрацен	? ^{*)}	$C_{14}H_{10}$
Алкилфлуорантен	?	
Аценафтилен		$C_{12}H_8$
Алкилирин	?	
Антрацен	-	$C_{22}H_{12}$
1,2-бензантрацен	+	$C_{18}H_{12}$
3,4-бензфлуорантен	++	$C_{20}H_{12}$
10,11-бензфлуорантен	++	$C_{20}H_{12}$
11,12-бензфлуорантен	-	$C_{20}H_{12}$
3,4-бензпирен	+++	$C_{20}H_{12}$
1,2-бензпирен	+	$C_{20}H_{12}$
1,12-бензпериллен	-	$C_{22}H_{12}$
Урилен	+	$C_{18}H_{12}$
Коронен	-	$C_{24}H_{12}$
1,2,5,6-дибензантрацен	+++	$C_{22}H_{14}$
9,10-диметил-1,2-бензантрацен	(активен)	$C_{20}H_{16}$
Флуорантен	-	$C_{16}H_{10}$
Флуорен	-	$C_{13}H_{10}$
Индено (1,2,3) пирен	+	$C_{22}H_{12}$
3-метилхолантрен	(активен)	$C_{21}H_{16}$
Фенантрен	?	$C_{16}H_{10}$
Периллен	-	$C_{20}H_{12}$
Пирен	-	$C_{16}H_{10}$
Трифенилен	-	$C_{18}H_{12}$

^{*)} Степень канцерогенной активности: +++ активная, ++ средняя активность, + - слабая, неактивный, ? - неизвестно

Таблица 38

Оценка перехода в водную фазу углеводородов, содержащихся
в битумах

Образец	Концентрация в мкг/кг и мкг/л		
	3,4-бенз- пирен	канцеро- генные углево- роды	общие углево- роды
Битумы	100	3400	3500
Вода:			
Образец 1. Длительность контактиро- вания с битумом 10 дней	0,0175	0,090	0,200
Образец 2. После длительного про- поласкивания в воде контактировал 10 дней с дистиллированной водой	0,0035	0,043	0,110

Таблица 39

Концентрация канцерогенных углеводородов в пресных водах

Тип вод	Пределы концентраций в мкг/л
Грунтовые воды	0,001-0,010
Воды чистых рек и озёр	0,010-0,025
Поверхностные воды	0,025-0,100
Поверхностные воды, сильно загрязнённые	0,100

Таблица 40

Содержание 3,4-бензпирена в морском планктоне

Источник	Концентрация 3,4-бензпирена в мкг/кг сухого веса
Гренландия	5,5
Италия	6,1-21,2
Ла-Манш	400
Средиземное море	не обнаружено - 5
Эстуарий, Ла-Манш	100
" " "	350
Диатомовые, собранные на фильтрах стоков пищевой промышленности	5,5

ртутной лампы. Для этого в сосуд Двара помещают кусок белой бумаги так, чтобы он оказался на том же месте, где находится при фотографировании спектра флуоресцирующий раствор. При непрерывном горении лампы делают 8–10 снимков рассеянного света ртутной лампы с различными экспозициями. Экспозиции подбирают экспериментально так, чтобы почернения от линии ртути 390,6 мкм на этих спектрах охватывали весь рабочий интервал. По результатам фотометрирования этой линии ртути строят характеристическую кривую фотопластинки. На оси ординат откладывают почернение линии ртути 390,6 мкм, а на оси абсцисс – логарифмы экспозиций. По построенной таким образом характеристической кривой фотопластинки определяют логарифмы относительных интенсивностей, сравниваемых спектральных линий на всех спектрах стандартных растворов и анализируемых проб. Они устанавливаются как разности абсцисс точек характеристической кривой, соответствующих почернениям сравниваемых спектральных линий. Точность метода – 53%, чувствительность – 0,25 мкг/мл. Для повышения точности спектр каждой пробы фотографируют три раза и берут среднее из всех определений.

Обзор методов определения канцерогенных углеводородов и их содержание в различных средах подробно изложены в обзоре М.И.Съеса [304]. Канцерогенная активность многоядерных ароматических углеводородов представлена в табл. 37. Из 24 углеводородов канцерогенная активность установлена для десяти соединений. Подавляющее число работ по содержанию ароматических углеводородов относится к определению 3,4-бензпирена. Только в самые последние годы появились работы по определению и других ароматических углеводородов во внешней среде. Источниками ароматических углеводородов в водах открытых водоёмов служат сточные воды нефтехимической и сланцехимической, углеперерабатывающей промышленности, а также выпадения из атмосферы. Содержание канцерогенных углеводородов во внешней среде представлено в табл. 38–40.

Состояние методических работ по определению ароматических углеводородов в природных и загрязнённых водах к настоящему времени достигло такой степени разработанности, что это определение может быть осуществлено в условиях лабораторий, контролирующих состояние водоёмов и источников питьевого водоснабжения [58, 145, 279].

Флуорометрический метод определения акролеина и родственных соединений с помощью м-аминофенола [217]

М-аминофенол в кислой среде при взаимодействии с акролеином и некоторыми другими соединениями (диэтил-ацеталь, гидрат-диацетат, сорбиновый альдегид, уксусный альдегид) образует интенсивно флуоресцирующее соединение 7-гидроксихинолина. В присутствии гидроксил-

Характеристика флуоресценции, возникающей при взаимодействии
некоторых соединений с реактивом М-аминофенол-гидро-
ксиламином

Соединения	Кон- цен- тра- ция,	Относитель- ная интен- сивность флуоресцен- ции при 495 нм	Длина волны воз- буждающе- го света, нм.	Максимум флуорес- ценции нм.
Акролеин	0,001	30	350-5	505-10
Диэтилацеталь	0,001	38	350-5	505-10
Гидрат-диацетат	0,001	48	350-5	505-10
Этоксипропиональде- гид диэтилацеталь	0,001	27	350-5	505-10
Метоксипропиональ- дегид диэтилацеталь	0,001	26	350-5	505-10
Окисленный спермин	0,005	27	350-5	505-5
Спермидин	0,005	13	350-5	505-5
Аллиламин	0,005	19	350-5	505-5
Кротоновый альдегид	0,001	20	345	495
3-пропилакролеин	0,01	20	350	500
Сорбиновый альдегид	0,1	15	355	500
Уксусный альдегид	1,0	18	345	495
Пропанол	1,0	40	350	500-5
Формальдегид	1,0	39	400	520
Глиоксаль	0,5	33	320	420-5
Пировиноградный альдегид	1,0	70	450-60	510
Фурафурол	0,1	20	365-70	460-5
Глюкоза	1,0	13	395	495
Сахароза	10	41	460	515-20
Аллиламин	1,0	12	355	505

аминна интенсивность свечения несколько повышается. Реактив готовят следующим образом: 250 мг м-аминофенола и 300 мг солянокислого гидроксиламина растворяют в 25 мл н.НСl . Этот реактив может храниться в темной склянке 3-4 дня.

Стандартная шкала делается из водных растворов акролеина. Калибровочный график для акролеина составлен для концентрации $0,2 - 3,4 \cdot 10^{-8}$ мкмоль/мл или других исследуемых соединений. Интенсивность флуоресценции образованного продукта измеряли на спектрофотометре Аминко-Боумен. Флуоресценцию возбуждали излучением с максимумом в области 450 нм. Измерение флуоресценции производили в области 510 нм. Концентрация акролеина $0,001$ мкмоль/мл соответствует 25-30 единицам флуоресценции. Минимально определяемые концентрации акролеина - $5 \cdot 10^{-5}$ мкмоль/мл, кротонового альдегида $1 \cdot 10^{-4}$ мкмоль/мл. При анализе растворимых в воде соединений к 2,0 мл исследуемого раствора прибавляли 0,5 мл раствора м-аминофенола-гидроксиламина и 0,5 мл 5н. НСl . Смесь нагревали 10 минут в кипящей водяной бане. Интенсивность флуоресценции образовавшегося комплекса остаётся постоянной в течение нескольких часов. После охлаждения раствора до комнатной температуры измеряли его свечение. Параллельно проводили холостой опыт с используемыми реактивами. Интенсивность флуоресценции холостого опыта вычиталась из интенсивности исследуемой пробы.

Изучено влияние на интенсивность флуоресценции продолжительности нагрева и температуры. Выяснено, что при подогреве реагирующей смеси до 98° интенсивность флуоресценции в 8-9 раз выше, чем при подогреве до 50° . Максимальная флуоресценция раствора появлялась при его подогреве в течение 10 минут.

В табл. 41 показана интенсивность флуоресценции м-аминофенола-гидроксиламина, появляющаяся в результате взаимодействия с другими соединениями. Флуоресценция продукта, образованного при взаимодействии реактива с уксусным альдегидом, формальдегидом, пропанолом, глюкозой, сахарозой, аллиламином в 1000 раз менее интенсивна, чем при взаимодействии м-аминофенола с акролеином. Также интенсивно флуоресцируют диэтилацеталь-гидрат-диацетат, β - этокси-пропиональдегид-диэтилацеталь, β - метоксипропиональдегид-диэтилацеталь, кротоновый альдегид. Эти соединения не дают определения акролеина.

ФЛЮОРЕСЦЕНТНЫЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ НЕФТЕПРОДУКТОВ И В ЧАСТНОСТИ БИТУМЕНОВ

В последнее время предложено несколько вариантов методов определения нефтепродуктов и отдельных фракций, основанных на измерении интенсивности флуоресценции [120, 139, 149, 165] . Однако

против этого метода имеются возражения [99,100], основанные на том, что основные компоненты нефтяных углеводородов (парафиновые и наftenовые) не флюоресцируют. Действительно, флюоресцирующими компонентами нефти являются масла, смолы и асфальтены, входящие в группу нефтяных битумов. Близки по строению к ним природные битумоиды. Поэтому нам представляется более правильным при использовании люминесцентного метода говорить об определении не нефтепродуктов в целом, а об определении битумоидов и их отдельных компонентов. Сами по себе битумоиды и входящие в их состав масла, смолы и асфальтены представляют собой важные показатели загрязнения водоемов. После биологической очистки сточной воды остаётся до 13% асфальтенов [88]. Смолы и асфальтены представляют собой смесь высокомолекулярных неуглеводородных соединений, состоящих из конденсированных колец, в которых гетероатомы — кислород, азот и сера [78, 212]. Интерес к определению битумоидов в воде, осадках и донных отложениях продолжает сохраняться, поскольку они представляют собой стойкую форму органического вещества, конечную стадию полимеризации некоторых веществ животного и растительного происхождения. Интерес к изучению битумоидов загрязнённых водоемов возникает в связи с оценкой отдалённых последствий загрязнения водоемов органическими веществами, которые объединяются под названием эфирорастворимых или хлороформорастворимых соединений. Процесс битумизации — это процесс конденсации нескольких молекул, образование их более устойчивой конфигурации, возникающей, как побочный процесс реакций окисления. В технологии многие процессы в качестве побочных продуктов дают смолы; окислительный крекинг, коксование угля [70, 71]. Это нежелательный процесс, приводящий к образованию инертного бросового продукта. Он возникает как побочная реакция полимеризации промежуточных продуктов окисления или полимеризации частиц, имеющих свободную валентность. Материалом для образования смол и асфальтенов служат масла, жиры и другие соединения. При этом они теряют часть концевых функциональных групп, восстанавливаются. Смолы образуются и могут поступать в водоёмы при переработке продуктов целлюлозно-бумажной промышленности [90, 127].

Смолы не растворимы в петролейном эфире и гексане, а асфальтены — в бензоле и спирте. На этом основан метод их разделения [49, 165]. Раздельное определение отдельных фракций нефтепродуктов целесообразно не только потому, что они ведут себя по-разному в водоеме, но и при токсикологической оценке их нередко рассматривают раздельно [40]. Делаются попытки раздельного определения лёгких фракций нефти и керосина [119].

При люминесцентном методе определения нефтяных смол, масел и асфальтенов легкая фракция не учитывается. Известно, что в керосинах и бензинах содержатся 3-10% ароматических моно- и бициклических углеводородов [I12, I13, I71]. Бензол, нафталин и их производные флуоресцируют в ультрафиолетовой области спектра, и поэтому их можно обнаружить [82] после извлечения в экстрактах органических растворителей и хроматографического разделения. *)

М е т о д ф л у о р е с ц и р у ю щ и х с ы в о р о т о к
Для идентификации растворимых антигенов и бактерий, содержащихся в воде, предложен метод специфических меченных люминесцирующими красителями сывороток [267, 284]. Сывороточные глобулины, полученные путём иммунизации специфическими антигенами лабораторных животных, метили флуоресцирующим красителем, например, флуоросцеин изоцианатом. Конъюгирование красителей с белками проводят при комнатной температуре. Краситель добавляют из расчета 1 г белка на 50 мг красителя. При перемешивании в течение 10-15 минут весь краситель присоединяется к белку. Для определения активности сывороток его титруют специфическим антигеном в различных разведениях. Величину активности выражают тем максимальным разбавлением, при котором еще наблюдается реакция взаимодействия сыворотки с антигеном. Активность сыворотки может колебаться в пределах 1:15 до 1:160.

Методика идентификации растворимых антигенов следующая. Растворимые антитела путём фильтрации исследуемого раствора фиксируют на искусственной среде (матрице), которой обработаны целлюлозно-ацетатные фильтры (обработка однопроцентным бычьим альбумином). Другой фильтр, контрольный, необходим для регистрации величины интенсивности флуоресценции, связанной с неспецифической сорбцией белка иммунной сыворотки на фильтре, не содержащем антигена. Специфической меченой флуоресцеином сывороткой в течение 50-30 минут обрабатывали фильтр, содержащий специфический антиген (проводили реакцию фиксации комплемента). Интенсивность флуоресценции определяли с помощью флуорометра Тернера, измеряя свечение непосредственно на фильтрах методом флуоресцентного скапирования.

Из полученных значений интенсивности вычитали значение фона. Высокое значение интенсивности на фильтре, через который профильтровывали исследуемый раствор, свидетельствует о том, что он содержит специфический антиген.

Таким же образом поступают при необходимости идентификации бактерий методом специфического взаимодействия меченных иммунных сывороток с бактериями. Специфические люминесцирующие сыворотки окрашивают бактерии, находящиеся в фиксированном препарате.

Ф и к с а ц и я а ц е т о н о м.

Длительность инкубации специфической сыворотки с

*) Методы разделения см., например, Ахром А.А., Кузнецова А.И. [5].

препаратом — 10–15 минут при комнатной температуре. Избыток сыворотки отмывают. Люминесцирующие сыворотки выпускает Институт микробиологии им. А.М. Давида АМН СССР. Препарат просматривают под люминесцентным микроскопом (модель МЛ-2). В месте фиксации меченой сыворотки на телах бактерий наблюдается специфическое свечение, цвет которого аналогичен цвету свечения меченой сыворотки.

Основной недостаток описанных методов состоит в наличии неспецифической адсорбции, которая наблюдается при иммунофлюоресцентном анализе. Неспецифическая адсорбция флуоресцирующих антигенов возникает благодаря электростатическим силам. Сывороточные белки имеют отрицательный заряд, повышающийся при конъюгировании их с флуорохромом. Флуоресцирующие конъюгаты ведут себя как кислые красители.

Для повышения специфичности метода препарат обрабатывают сначала неспецифичной меченой красителем сывороткой (бычьим альбумином). Сначала исследуемый препарат обрабатывают неспецифической сывороткой, а затем — специфической. Адсорбированная неспецифическая сыворотка образует фон. Например, кислотный хром красный краситель, адсорбированный на альбумине, флуоресцирует жёлто-коричневым цветом, а кислотно-хром чёрный имеет оранжево-красный цвет. В то время как специфическая сыворотка, меченная флуоресцентом, светится зеленым цветом. Таким образом, на фоне неспецифического сорбированного флуорохрома выделяются бактерии, специфически взаимодействующие с иммунными сыворотками [128].

При приготовлении меченых сывороток несвязавшиеся конъюгаты освобождали от несвязавшегося флуорохрома диализом и пропусканием через колонку с ионообменной смолой.

Метод флуоресцирующих сывороток применён для идентификации бактерий группы коли в водах открытых водоёмов и идентификации патогенных желудочно-кишечных бактерий [238].

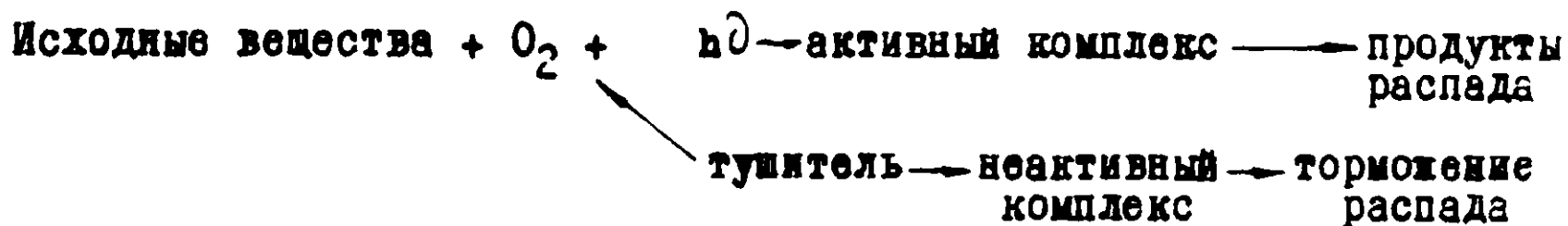
Метод отличается своей простотой и быстротой, по сравнению с биохимическим методом [267, 272].

Г л а в а У

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ ОКИСЛЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ

Окисление органических веществ — один из основных процессов, сопровождающих распад соединений, которые поступают в водоём с загрязнениями или в результате отмирания организмов. До сих пор все методы изучения минерализации органического вещества были основаны на измерении поглощения кислорода. При этом оставались неизвестными те элементарные процессы и первичные взаимодействия, которые участвуют в окислительных реакциях, протекающих в природ-

ных водах. Разделить превращения веществ, происходящие в водоеме с участием организмов или под влиянием физико-химических факторов (света, растворенного кислорода, металлов переменной валентности, некоторых окислов и т.д.), чрезвычайно трудно, а иногда и невозможно. Биохимические и физико-химические процессы в водоеме очень тесно связаны, нередко они перекрещиваются и действуют сопряженно. Чтобы выделить влияние отдельных факторов, оценить их качественное и количественное участие в процессе деструкции органического вещества, необходимо последовательно изучить механизм превращения веществ на различных уровнях, вплоть до его отдельных элементарных стадий. В этих исследованиях оказываются полезными методы химической кинетики и химической физики [205, 210, 211]. В самых простых реакциях скорость химического процесса определяется только концентрацией исходных веществ. Но во многих более сложных случаях на характер превращения веществ влияют промежуточные продукты реакции [186, 191]. Реакции превращения веществ с участием кислорода и света можно изобразить следующим образом:



Реакции окислительно-восстановительного типа сложные. Они проходят через несколько стадий. На значение промежуточных стадий в превращении веществ обратил внимание А.Н. Бах (1897)^Ж, разработавший перекисную теорию окисления. Согласно этой теории процесс окисления протекает через промежуточную ступень — образование перекисного соединения, которое обладает более сильным окисляющим действием, чем молекула кислорода. Молекула кислорода в обычном состоянии химически мало активна. Активизация кислорода путем разрыва на отдельные атомы энергетически крайне затруднена. Энергия диссоциации молекулы кислорода составляет 117 ккал. Значительно легче активизировать молекулу, разорвав в ней лишь одну связь: $\text{O} = \text{O} \longrightarrow \text{O} - \text{O}$. Энергия диссоциации связи $\text{O} - \text{O}$ составляет 30–40 ккал. Именно такая активизация имеет место при образовании перекисей. Окисляющая молекула кислорода в этом случае не разрывается на отдельные атомы, а присоединяется как одно целое к окисляемому веществу с образованием его перекиси. Образование перекисных соединений — одна из первых стадий окисления органических веществ. Стадия окисления промежуточными соединениями типа перекисей характерна не только для химических реакций, но и для превращения веществ, протекающих с участием водных организмов. Это очень важное

^Ж См. Бреслоу Р. [21]; Брэн Дж. и К. Уайт [20]; Миллер Дж. [12].

обстоятельство позволяет использовать одни и те же методы изучения элементарных стадий биохимических и химических реакций.

Ниже рассмотрены механизм и условия возникновения хемилюминесценции, а также использование этого явления для изучения процессов окисления веществ в водоемах. Хемилюминесценцией чаще всего сопровождаются реакции, идущие с участием свободных радикалов, в присутствии кислорода [25-27, 276].

Свободные радикалы - активные частицы

Впервые понятие о свободных радикалах как промежуточных активных продуктах, участвующих в окислительно-восстановительных реакциях, ввел Михаэлис [277]. Он представлял окислительно-восстановительную реакцию как сложный процесс, который проходит через несколько стадий образования последовательных одновалентных соединений. Например, процесс дегидрирования органического вещества AH_2 и передача двух атомов водорода или соответственно двух электронов и двух протонов акцептору В по Михаэлису проходит через две стадии.

Свободные радикалы - это короткоживущие частицы свободных атомов, части молекул, обладающие одним или несколькими неспаренными электронами на внешней орбите. Стабильные частицы, которые обладают неспаренными электронами (Fe^{3+} или O_2) не называют свободными радикалами. Свободными радикалами могут быть очень различные по химическому составу соединения. Например, источниками радикалов семикислородного типа могут служить следующие вещества: аскорбиновая кислота, витамин B_2 , витамин К, этилгаллат, пропилгаллат. Одним для свободно-радикальных реакций будет существование свободных валентностей у одних взаимодействующих веществ и способность других веществ заполнить эту свободную валентность. Благодаря имеющейся у них свободной валентности и малой энергии активации, они, как правило, обладают большой химической активностью. Свободная валентность не может исчезнуть в результате взаимодействия свободного радикала с молекулой. Вследствие этого опять образуется свободный радикал, который может вступить в реакцию с новой молекулой. Таким образом, один свободный радикал может вызвать длинную цепь химических превращений, в которой реакция протекает в несколько стадий, более выгодных с энергетической точки зрения.

Свободные радикалы возникают, например, из субстратов и ферментов метаболических реакций, как промежуточные продукты реакций окисления, протекающих по цепному механизму. В то же время предполагают, что наблюдаемые методом электронного перманганатного резонанса свободные радикалы могут принадлежать не отдельным молеку-

лам, а их активным комплексам [48, 91]. Наиболее распространенный тип реакции с участием свободных радикалов – обменные радикальные реакции.

Под действием света, высоких температур, ионизирующего излучения возникают свободные радикалы. Превращения веществ, идущие с участием свободных радикалов в водоёме, разнообразны: фотохимические реакции, деструкция органического вещества, поступающего в водоём со сточными водами, окислителями. Окисление органических веществ озоном происходит с помощью свободных радикалов [87, 301].

Хемилюминесценция и её использование для изучения механизма экзотермических реакций

Изменение энергии реагирующих веществ А-В и С схематически показано на рис.12. На первой стадии вследствие соударения с другой реагирующей молекулой система получает добавочную

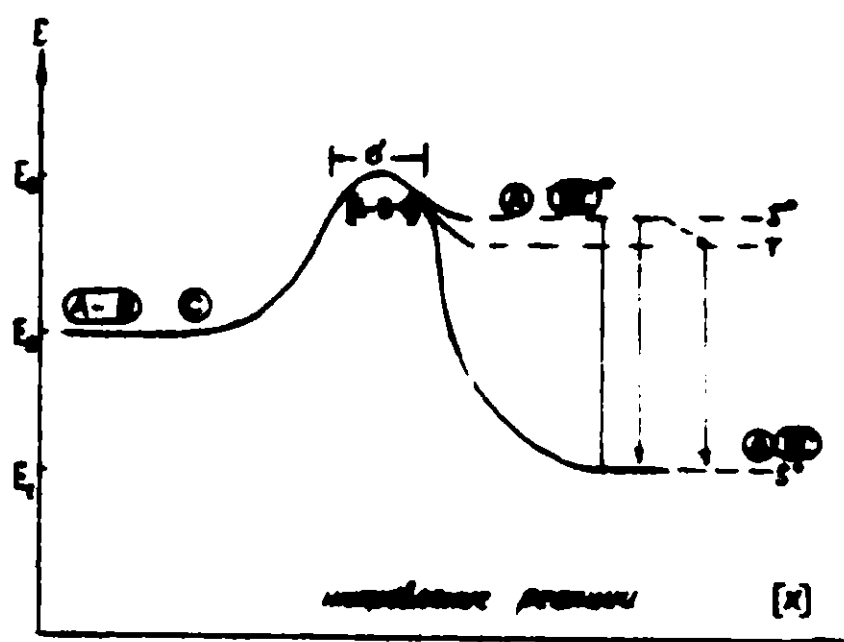


Рис.12. Изменение энергии протекания реакции двух соединений (А-В и С) в процессе их химического взаимодействия. Ось ординат – величина энергии. Ось абсцисс – направление реакции.

энергию и переходит на наиболее высокий возможный для неё энергетический уровень. Чтобы молекулы могли реагировать, их нужно активировать. Чем больше активация, тем реже происходят столкновения молекул, энергии которых достаточно, чтобы вызвать реакцию при данной температуре. И тем медленнее протекает реакция.

Обычно реакция идет через кратковременно существующее

промежуточное соединение – активированный комплекс. Активированный комплекс – не просто промежуточное соединение. Он представляет собой молекулу, в которой одна из связей находится в процессе разрушения или образования. Чтобы вещество А превратилось в вещество В, необходимо его активировать до состояния промежуточного комплекса. Уравнение Аррениуса предполагает, что молекулы, чтобы прореагировать, должны обладать некоторой энергией (E_a). Образование новых связей требует затраты энергии. При перестройке промежуточного комплекса выделяется свободная энергия, большая часть которой проявляется в виде тепла. В некоторых случаях молекула способна удержать часть энергии и затем излучить ее в виде света [45, 208].

Окисление органических веществ молекулярным кислородом — цепная радикальная реакция [25–27]. Возбуждение происходит в акте рекомбинации перекисных радикалов. Реакция окисления идет через промежуточный комплекс, который перестраивается, образуя спирт, кетон и другие карбонильные соединения. Хемилюминесценция сопровождается также реакцией переноса электрона и возбуждение молекулярного кислорода. Но экспериментальных величин, характеризующих электронно-возбужденное состояние [75], пока еще мало.

Продувание кислорода через систему реагирующих веществ неизменно приводит к усилению хемилюминесценции [27]. Р.Ф. Васильев показал, что в радикальных реакциях усиление хемилюминесценции при введении кислорода имеет химическую природу. Оно связано с проявлением перекисных радикалов в реакции и с высокими выходами при рекомбинации перекисных радикалов.

Большую роль в хемилюминесценции, особенно в растворах, играет взаимодействие возбужденных молекул с молекулами среды. При этом возможны три типа процессов: а) перенос энергии от возбужденного продукта к молекуле среды; б) химическая реакция между возбужденной молекулой и молекулой среды; в) влияние молекул среды на вероятность переходов в молекуле промежуточного комплекса.

Например, парамагнитная молекула кислорода оказывает возбуждающее действие на молекулы некоторых люминесцирующих веществ, в результате чего увеличивается переход электронов с синглетного на триплетный уровень, которые не сопровождаются излучением света.

Иницирующим воздействием на окислительный процесс обладают металлы переменной валентности [210, 211, 274, 279, 306]. Роль ионов железа в хемилюминесценции липидов изучена Т.Б. Суслонов, Л.А. Владимировым и В.И. Оленевым [78].

Биохемилюминесценция клеток может быть использована в качестве чувствительного детектора для оценки повреждающих воздействий при адаптации биологических систем к внешним воздействиям, т.е. выявлению тех конечных порогов, в пределах которых возможно существование динамического равновесия химических реакций в клетках [181–183]. Хемилюминесцентный метод используется для изучения физико-химических основ авторегуляции в клетках [182]. В водоемах хемилюминесцентный метод позволяет выделить роль отдельных факторов в биологических процессах, не только имеющих физико-химическую, но и биохимическую основу. Например, выяснена роль летучих биогенных метаболитов как фактора, который вызывает окисление аскорбиновой кислоты [173]. Именно с помощью методов молекулярной биологии возможно осуществление тех подходов в изучении трофических связей в водоеме, о которых писал Дж.Д. Стрикленд [177].

Хемилюминесценция люминола в воде открытых водоемов

Люминол обладает высоким выходом хемилюминесценции и потому удобен для изучения факторов, влияющих на окислительный процесс. Его хемилюминесценция возникает в присутствии кислорода. Наличие в растворе следов H_2O_2 резко усиливает интенсивность свечения люминола [269, 275, 300]. Для реакций окисления люминола с участием перекиси водорода квантовый выход составляет $6-7 \cdot 10^{-3}$, а для реакций с участием окислителей (феррицианида, персульфата, гипохлорита) и катализаторов квантовый выход равен $10^{-4} - 10^{-5}$ фотонов/мол. [74]. В присутствии H_2O_2 люминол полностью окисляется в соединение, излучающее свет (в анион 3-аминофталевой кислоты), в то время как при отсутствии перекиси водорода, основная часть люминола расходуется в темновых процессах.

Роль перекиси водорода и органических перекисей состоит в том, что они служат поставщиками свободных радикалов. Неорганические радикалы, взаимодействуя с молекулами органических веществ, образуют органические радикалы. Окисление люминола без участия перекиси протекает по ионному механизму.

В ряде работ было показано, что интенсивность и длительность свечения люминола в природной воде и воде, загрязненной промышленными и бытовыми сточными водами, может значительно отличаться от хемилюминесценции его в дистиллированной воде [107, 159]. Люминол как индикатор свободно радикальных реакций может быть использован в том случае, когда удаётся отличить хемилюминесценцию, возникающую в результате образования промежуточных продуктов, которые находятся в радикальной форме, от свечения, обусловленного окислением его по типу ионных реакций (при отсутствии перекиси). Отличить эти процессы удаётся отдельным измерением хемилюминесценции речной воды, в которую добавлен люминол, и той же воды, в которой перекись разрушена каталазой.

Для выяснения особенностей окисления люминола в природной воде, по сравнению с условиями в дистиллированной воде, было поставлено три серии опытов. В первой серии в 30 мл исследуемой воды при pH 8,5 вводили 1,0 мл 5-процентного раствора красной кровяной соли, 1,0 мл 0,1-процентного H_2O_2 и 1,0 мл 0,06-процентного раствора люминола, растворенного в 1-процентном Na_2CO_3 . При этом возникало яркое свечение, интенсивность которого первое время была постоянной, а затем начинала снижаться по типу экспоненциальной кривой. Скорость падения интенсивности свечения связана со скоростью окисления люминола. Повторное введение в систему тех же количеств окислителя и перекиси вызывало значительно меньшую интенсивность хемилюминесценции, так как определенная часть люмино-

да уже прореагировала. Интенсивность хемилюминесценции пропорциональна концентрации люминола в системе.

Рис. 13. Зависимость интенсивности хемилюминесценции от времени.

Рис. 14. Зависимость интенсивности хемилюминесценции от концентрации люминола.

Рис. 15. Зависимость интенсивности хемилюминесценции от концентрации люминола.

Во второй серии опытов в последующую и дистиллированную воду вводили активированный агент $K_2Fe(SO_4)_6$ и люминол без перекиси. В этом случае возникала хемилюминесценция, но интенсивность её была в десять раз ниже (рис. 13).

Возникновение свечения можно объяснить присутствием в исследуемых водах перекиси, взаимодействующей с активированным агентом. В третьей серии опытов в образцы вод вводился только один люминол. Цель опытов — выяснить, присутствуют ли в пробе радикалы, и определить условия их возникновения в различных образцах природных и загрязненных вод. Интенсивность возникавшего свечения в данном случае была в несколько тысяч раз меньше, чем в первой серии опытов, но свечение неизменно обнаруживалось во всех образцах вод, отоб-

ранных на р. Клязьме (от Клязьминского водохранилища до г. Владимира), и в воде ее притоков Шоки и Воры. В контрольном опыте с дистиллированной водой свечение отсутствовало. При длительном хранении содового раствора люминола (3—4 недели) в нём появлялось слабое свечение, связанное с начавшимся процессом самоокисления.

Интересно было выяснить, обусловлена ли хемилюминесценция люминола, вводимого в исследуемую воду, тем же механизмом, что и в системе с добавлением перекиси и активированных металлов. Известны некоторые отличительные особенности цепных свободно-радикальных реакций. Высока также чувствительность к некоторым специфическим воздействиям. При этом некоторые из факторов (свет) оказывают на свободно-радикальные реакции индущующее действие в том смысле, что реакция продолжает развиваться и после прекращения воздействия.

Введение в систему ингибиторов вызывает замедление или прекращение реакции окисления. Торможение окислительного процесса в этом случае сводится к замене активного перекисного радикала на малоактивный радикал ингибитора, не способный к продолжению цепной реакции. При этом интенсивность хемилюминесценции снижается или полностью подавляется.

После облучения раствора интенсивность свечения возрастает. Наконец, для его протекания обязательно присутствие кислорода. В бескислородной среде цепная реакция обрывается, хемилюминесценция отсутствует. Ниже приводятся результаты опытов с люминолом в речной воде.

Тушение хемилюминесценции. Результаты тушения хемилюминесценции фенолом системы люминол - H_2O_2 - красная кровяная соль представлены на рис. 14.

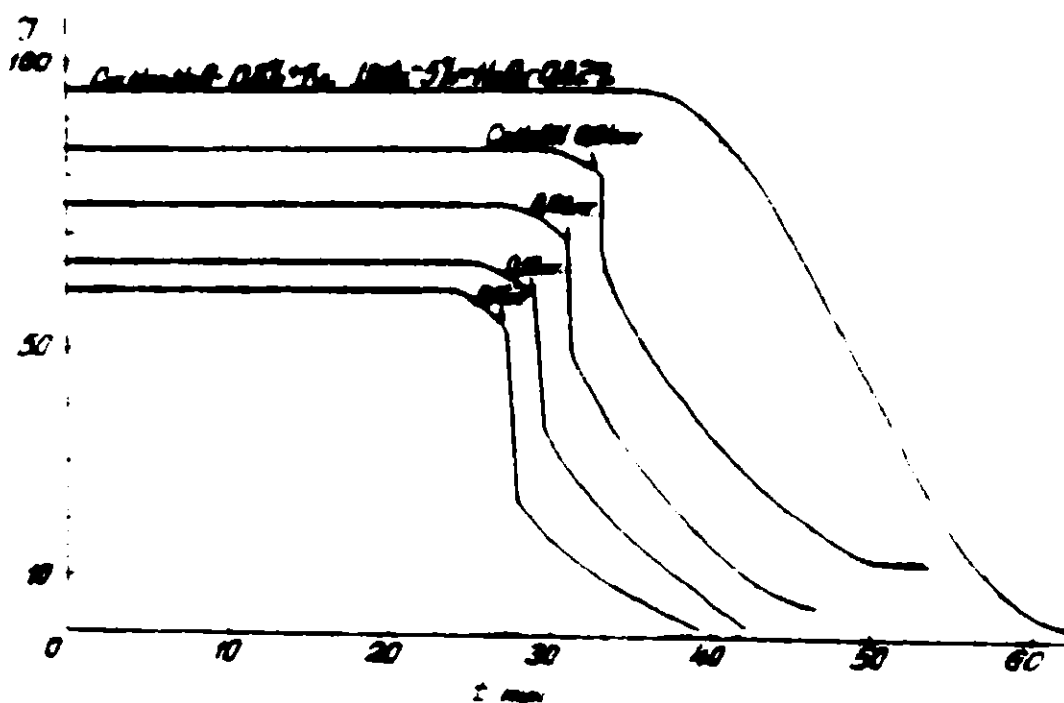


Рис.14. Изменение хемилюминесценции люминола (в присутствии железосинеродистого калия в перекиси водорода) в природной воде после введения разных количеств (0,04-0,16 мг фенола). Стрелка показывает момент введения фенола. В контрольный образец фенол не вводился. На оси ординат интенсивность флуоресценции в единицах шкалы самописца ЭПП-09. На оси абсцисс — время протекания реакции в минутах.

Интенсивность хемилюминесценции зависит от концентрации в образце люминола. В начале реакции падение интенсивности свечения после введения 0,05-0,15 мг фенола отсутствовало. Это можно объяснить избытком перекиси и активирующего агента в системе, в результате чего возникал избыток свободных радикалов. Только после его израсходования начиналось падение хемилюминесценции. Введение фенола в этот период снижало интенсивность хемилюминесценции (степень снижения была пропорциональна концентрации вводимого фенола). Более сильным ингибитором, по сравнению с фенолом, оказался α -нафтол. Введение в воду $2 \cdot 10^{-5}$ ммоль α -нафтола во всех трех сериях опытов полностью тушило хемилюминесценцию.

Действие инициаторов. Металлы переменной валентности, оказывающие действие на реакцию свободных радикалов, повышали интенсивность свечения люминола во всех образцах исследуемых вод (табл. 42). Тотчас после прибавления в раствор, содержащий люминол и H_2O_2 хлористого железа и сернокислой меди, появлялась вспышка свечения, во много раз превышающая начальную интенсивность образца. В табл.42 представлены величины интенсивности хемилюминесценции через одну минуту после введения металла, так как начальную вспышку зарегистрировать не удалось (табл. 42).

Усиление хемилюминесценции при воздействии инициаторов возрастает в 15-30 раз. Длительность свечения возрастает в 2,5-4 раза.

Интенсивность хемилюминесценции в июле 1968 г. (в единицах шкалы ЭПН-09), возник-
кающей в воде в присутствии люминола под влиянием некоторых факторов (среднее из
четырёх определений)

Образец	Начальная интенсивность хемилюминес- ценции	После внесения добавок				Действие света (лампа ЭУВ-15)
		$K_2F_2(CN)_6 =$ $5 \cdot 10^{-5}$ моль	$CuSO_4 =$ $2 \cdot 10^{-4}$ моль	$FeCl_2 =$ $2 \cdot 10^{-4}$ моль	$C_2H_5OH =$ $2 \cdot 10^{-2}$ моль	
Клязьминское водохранилище	9	175	130	170	фон	650
р. Клязьма	11	162	210	200	фон	1300
д. Пирогово	14	174	340	290	фон	930
г. Щёлково	5	181	110	130	фон	320
с. Балабаново	4	73	120	130	фон	570
г. Ногинск	6	194	170	160	фон	860
г. Орехово-Зуево	14	130	390	350	фон	1900
г. Владимир						

Действие света. Источником ультрафиолетового излучения служила газоразрядная лампа ЗУВ-15. Длительность облучения 30 мл воды составляла 30 сек. После облучения образец пневматическим способом вводился в реакторный сосуд. Условия измерения были такие же, как и в работе [162]. Ультрафиолетовое излучение — сильно действующий фактор, возбуждающий цепной свободно-радикальный процесс в речных водах. Интенсивность свечения после облучения ультрафиолетом возрастает в 50–100 раз. Длительность свечения составляет 40–90 сек. Интенсивность хемилюминесценции снижается по экспоненциальному закону, но скорость этого процесса в водах с разной степенью загрязненности различна и зависит, вероятно, от количественного и качественного состава органического вещества. Степень усиления хемилюминесценции индикаторами и светом от водохранилища до Орехово-Зуева снижается. На участке р. Клязьмы Щелково-Ногинск, в значительной степени загрязненном промышленными стоками, содержащими ингибирующие вещества, возрастание интенсивности свечения под влиянием внешних факторов меньше, чем при воздействии этих же факторов в чистых водах (р. Клязьма на участке от водохранилища до Щелково).

Кислородный эффект. Для выяснения влияния кислорода на интенсивность хемилюминесценции речной воды через образец продували кислород и углекислоту (рис. 15). Продувание углекислоты приводило к падению интенсивности хемилюминесценции до нулевых значений, а при барбатировании кислорода интенсивность свечения возрастала. Данные этих опытов свидетельствуют о том, что в реакции, связанной с хемилюминесценцией, имеется стадия образования пероксирадикалов $R^{\cdot} + O_2 \rightarrow RO_2^{\cdot}$. Приведенные данные о хемилюминесценции ламинала в речной воде свидетельствуют о том, что она обусловлена свободно-радикальным механизмом, а введение ламинала в исследуемую воду (при pH более 8,0) может служить индикатором

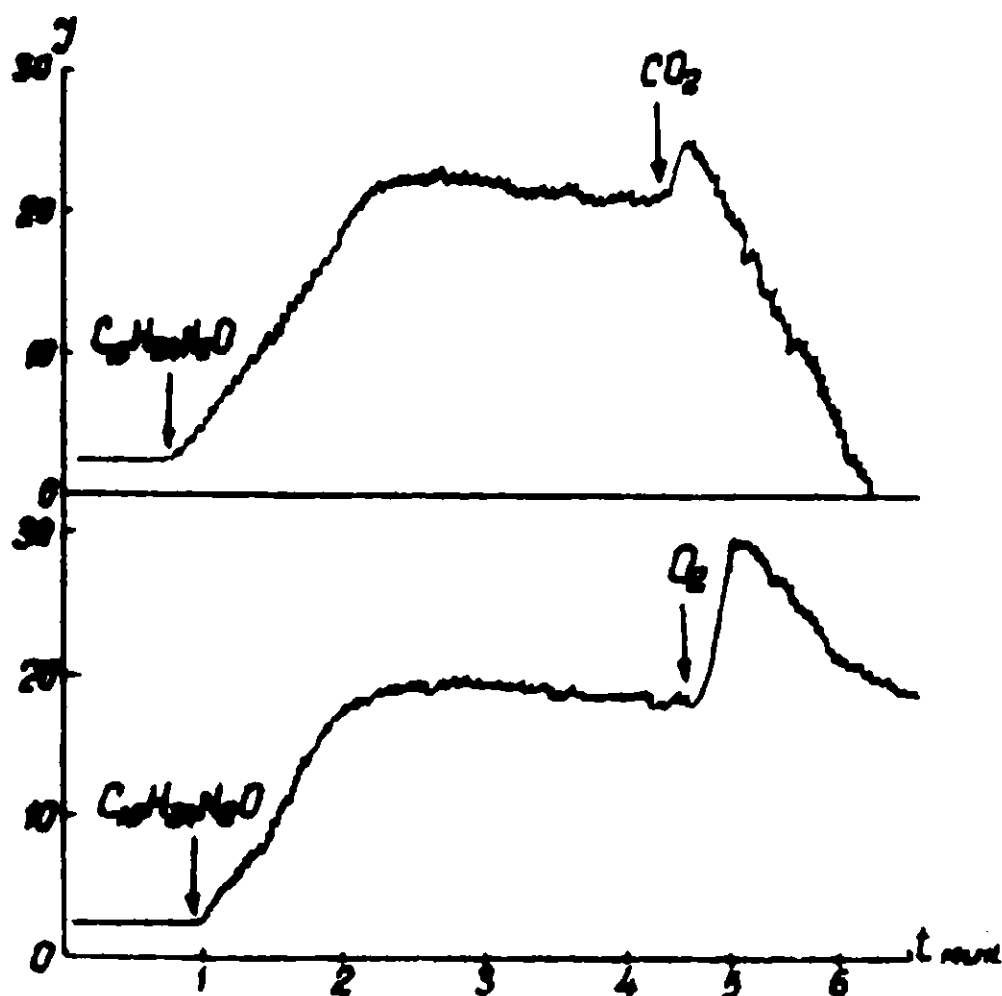


Рис. 15. Запись изменения интенсивности хемилюминесценции ламинала в природной воде после продувания через воду кислорода и углекислоты. Стрелками показаны момент введения в воду ламинала и начало продувания газа. Обозначения на оси ориентированы с тем же, что и на рис. 14.

отдельных стадий процесса окисления и помогает выяснить влияние на него некоторых факторов.

Для определения начального этапа окисления была проведена серия опытов, открывающая присутствие в исследуемых водах перекиси водорода и гидроперекиси. С этой целью к 100 мл исследуемой воды прибавляли $2 \cdot 10^{-8}$ М каталазы (молекулярный вес 248000). Действие каталазы специфично. Она разлагает H_2O_2 . Образец исследуемой воды обрабатывался каталазой в течение часа в темноте. Затем измерялась интенсивность хемилюминесценции в присутствии люминола и активирующего агента до и после обработки воды каталазой. Оказалось, что после обработки воды каталазой интенсивность хемилюминесценции снижалась. Однако она никогда не падала до нулевых значений, что свидетельствует о том, что, помимо перекисей, в исследуемых водах действуют и другие факторы, вызывающие хемилюминесценцию люминола. Как видно из рис. 16, разница в начальной интен-

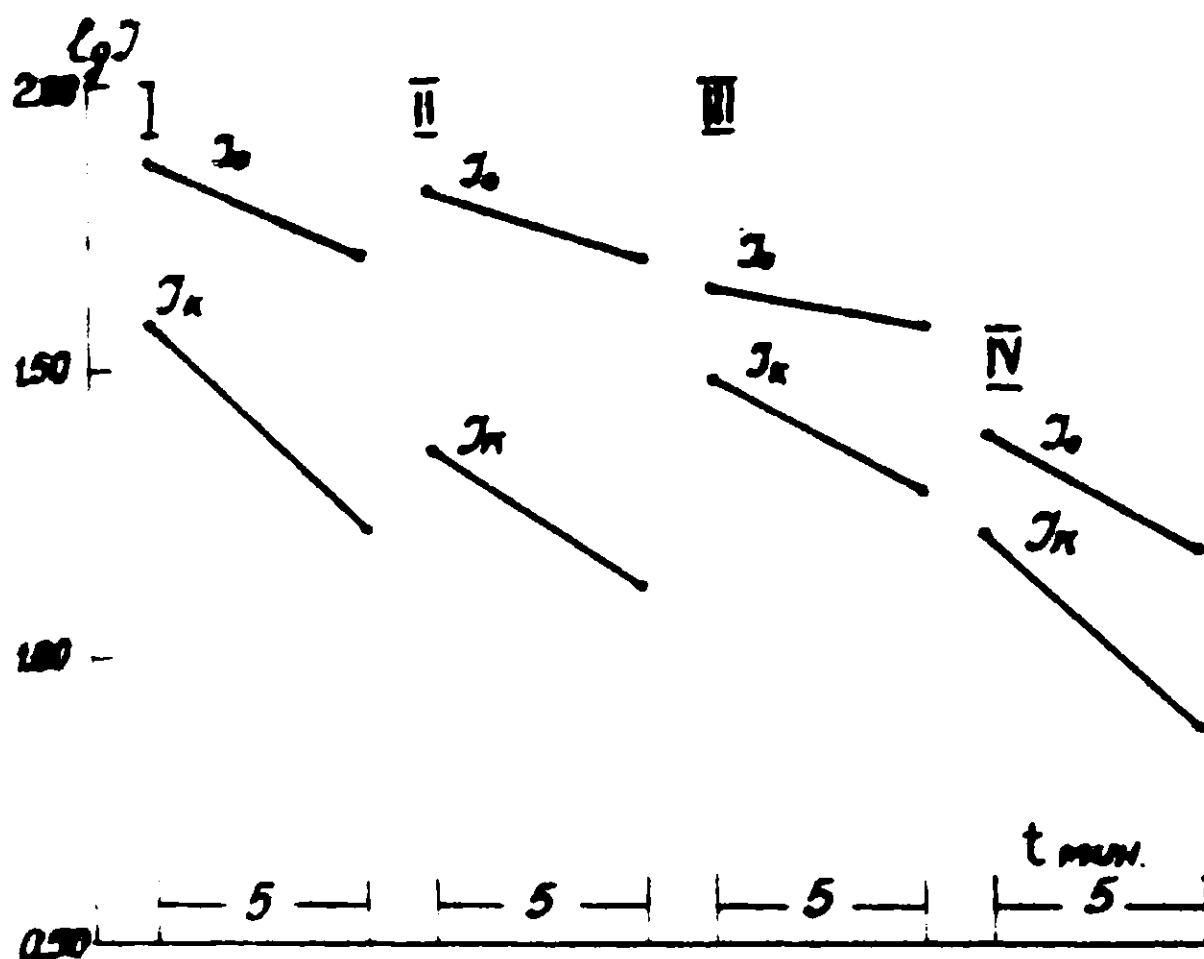


рис. 16. Изменение интенсивности хемилюминесценции в четырех образцах вод из р. Кизилы до (I_0) и после (I_k) введения в них каталазы. По оси ординат — относительная интенсивность хемилюминесценции. По оси абсцисс — время протекания реакции в каждом образце в минутах. Степень наклона отдельных отрезков прямых показывает скорость протекания реакции.

сивности хемилюминесценции между водой, обработанной и не обработанной каталазой, в чистых образцах вод составляет 0,20–0,35, а на загрязненных участках — 0,10–0,15, что, возможно, зависит от разной концентрации перекисей на отдельных участках р. Кизилы. Для выяснения этого обстоятельства были предприняты количественные определения содержания перекиси. Динамика изменения хемилюминесцен-

нии при введении в воду природных полимерных молекул (пептона, крахмала, белка) отличается от характера свечения при содержании в воде более простых по строению веществ. При введении природных полимеров наблюдается усиление интенсивности свечения, но в последующий период времени эта интенсивность оказывается несколько ниже, чем в контроле (рис. 17). Длительность хемилюминесценции возрастает. Природные полимеры в данном случае выступают в качестве конкурентных веществ. Разложение перекиси в присутствии органических веществ приводит к образованию радикалов O_2 и HO , которые, взаимодействуя с органическими соединениями (примесями), образуют перекисные радикалы последних.

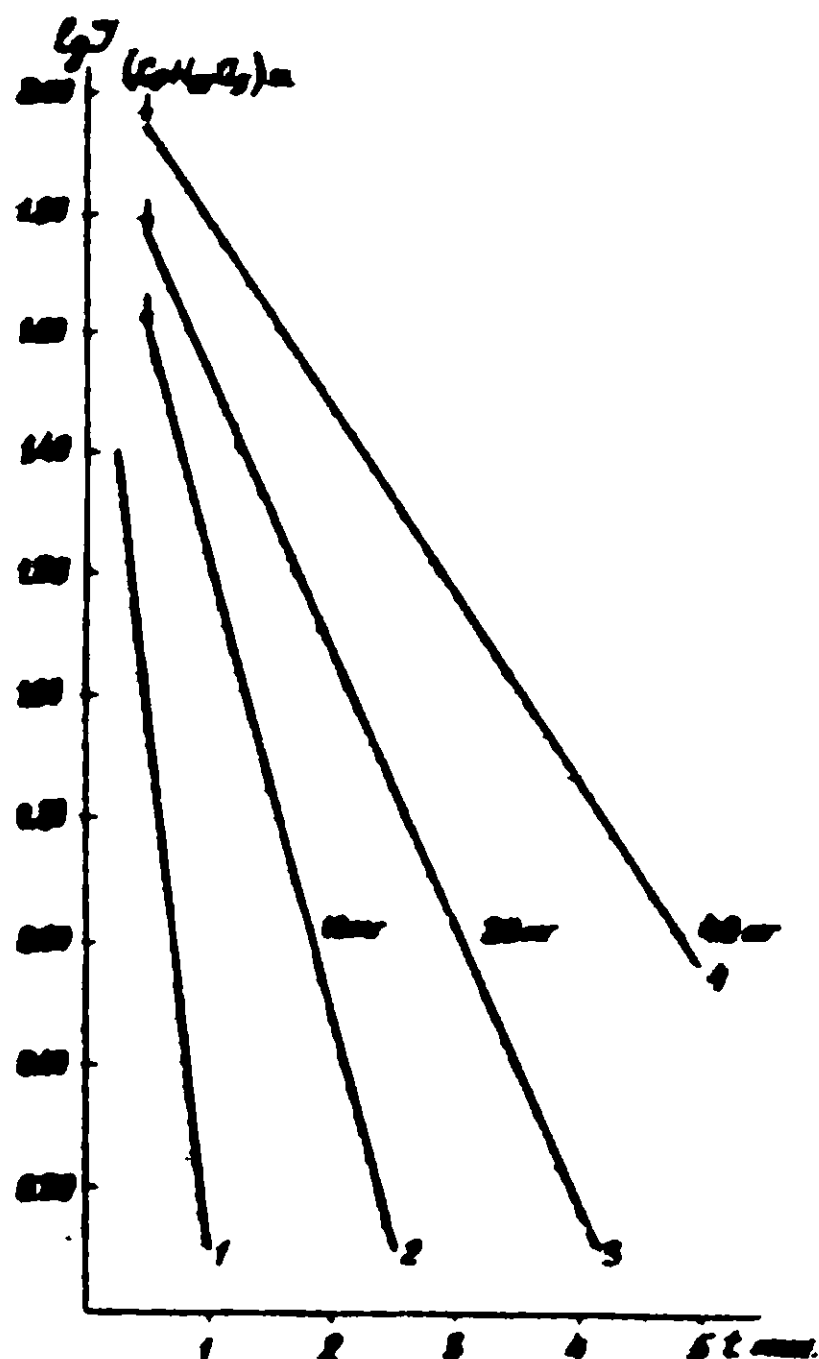
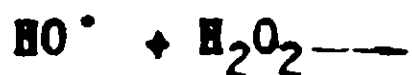
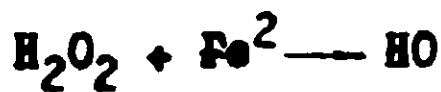


Рис. 17. Изменение интенсивности хемилюминесценции люминола при введении в воду различных концентраций (10–40 мг) крахмала. Стрелкой показан момент сброса крахмала. В образце 1 крахмал не внесен. Обозначения на осях абсцисс и ординат те же, что и на рис. 16.

В этом случае происходит конкурентный захват HO радикала природными полимерами:



HO^{\cdot} — радикал, наиболее активный из известных радикалов, реагирует с природными полимерами (PH). При этом образуются устойчивые радикалы природных полимеров, обладающие малой активностью. Таким образом, перекись водорода, содержащаяся в воде, предохраняется от распада и происходит обрыв цепи окисления. Конкурентные вещества в данном случае выступают в качестве своеобразных регу-

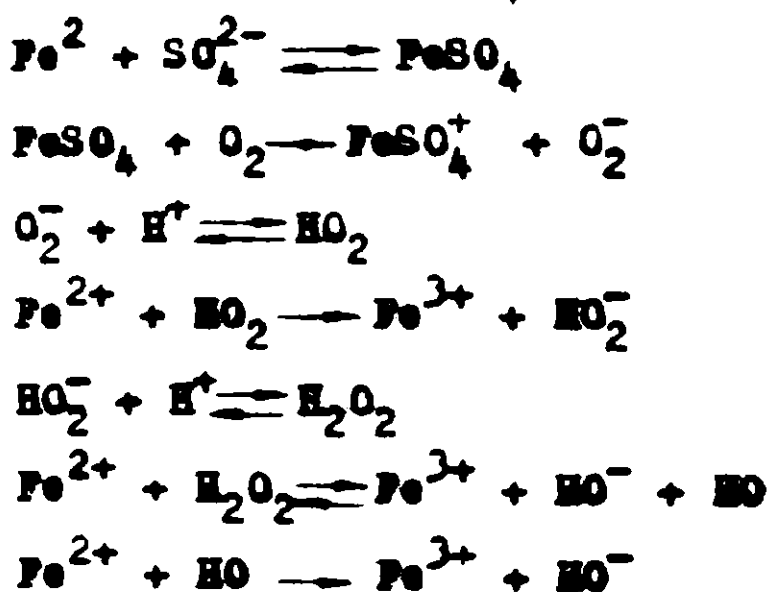
латоров окислительного процесса, развивающегося по цепному свободнорадикальному механизму.

Перекись водорода в природной воде

Перекись водорода рассматривают как соединение, необходимое для нормальной жизнедеятельности организмов [197]. В тканях теплокровных животных содержится 30–80 мкг/л тканевой жидкости H_2O_2 . Считают, что из всех окислителей только одна перекись в состоянии участвовать в реакциях тех же типов, которые осуществляются ферментами [202, 207].

Разрушение соединений пероксидазами происходит по перекисному типу. В живых тканях H_2O_2 образуется восстановлением молекулярного O_2 аэробными дегидразами, а также в результате других ферментативных реакций [141]. Перекись водорода и органические гидроперекиси [143] – промежуточные продукты окисления органических веществ при биохимических [121, 131] и химических реакциях [47, 111, 132, 172].

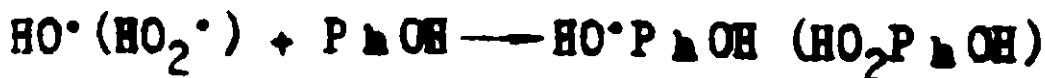
Одним из продуктов промежуточного окисления перекисью водорода моноциклических углеводородов является фенол [204]. Е.Т.Денисов и Д.И. Метелица [47], обстоятельно рассмотревшие механизм окисления фенола молекулярным кислородом в присутствии ионов железа и меди, показали возможность образования H_2O_2 ионами двухвалентного железа с участием иона SO_4 .



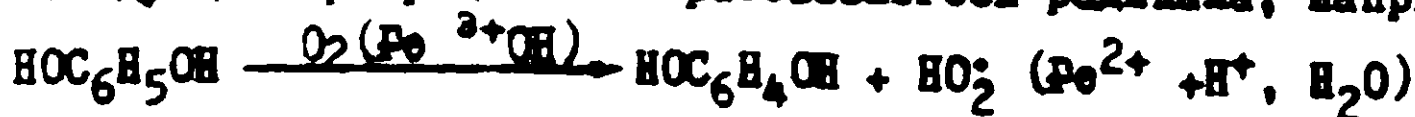
Окисление фенола свободными радикалами может происходить по реакции отрыва водорода:



и по реакции присоединения:



с последующим превращением образовавшегося радикала, например:





Образовавшийся полифенол подвергается дальнейшему окислению.

Хотя пока не ясно, какой именно радикал ($\text{HO}\cdot$, $\text{HO}_2\cdot$ или оба вместе) атакует фенол и по какой реакции осуществляется эта атака, важно отметить, что свободные радикалы, образующиеся в качестве промежуточных продуктов, могут дать начало побочной реакции свободно-радикальной полимеризации, в результате которой образуется высокомолекулярный продукт. Феноксильные радикалы в присутствии окислителей могут превращаться в другие радикалы [138, 176]. Образование смол в качестве побочного продукта известно. Подобные процессы, обычно требующие высоких температур и давлений, в природных водах протекают хотя и с гораздо меньшими скоростями, но в значительно менее жестких условиях. В водоёмах, в которые вносится фенол, обнаружены не только высокие содержания H_2O_2 , но и повышенные концентрации других окислителей [168].

В работе В.Е. Синальникова [168] выясняется роль H_2O_2 как промежуточного продукта окисления фенола в водоёме на основе современных представлений о цепных окислительных реакциях, протекающих с участием свободных радикалов. В зависимости от условий (освещения, pH, температуры среды и т.д.), при которых идет реакция, из одних и тех же молекул могут образовываться различные радикалы (семикиноны, нейтральные свободные радикалы и др.) [86]. Здесь важно подчеркнуть, что образовавшиеся радикалы могут дать начало цепи окисления и как активные формы влиять на ход окислительного процесса [211, 213]. С помощью хемилюминесцентного метода эти активные промежуточные продукты могут быть обнаружены.

Для количественного определения H_2O_2 был применён йодометрический метод [89]. Реакция окисления йодистого калия перекисью водорода, содержащейся в природной воде, неспецифична из-за присутствия в ней других окислителей. Поэтому о содержании H_2O_2 судили по равности между количеством тиосульфата, израсходованного на титрование образцов воды без добавления и с добавлением каталазы. Каталаза является ферментом, специфически разлагающим H_2O_2 [12]. Проведенные нами предварительные опыты с гидроперекисью кумола, моногидроперекисями диалкилпропилбензола и дифенилэтана показали, что органические перекиси каталаза не разрушает.

Через воду, обработанную и не обработанную каталазой, для удаления кислорода пропускали CO_2 . После этого в каждый образец вносили 10 мл соляной кислоты 2:1 и 5 мл 15% йода калия. Свободный йод оттитровывали из микробюретки 0,002 н раствором тиосульфата после 20-минутной экспозиции проб в темноте. Концентрация H_2O_2 определялась по формуле:

$$C = \frac{(V_1 - V_2) \cdot N \cdot 3400}{2 \cdot V} \quad \text{мг } \text{H}_2\text{O}_2/\text{л} ,$$

где a_x - количество тиосульфата (мл), которое потребовалось для титрования образца, не обработанного каталазой; a_0 - количество тиосульфата (мл), необходимое для титрования того же объема воды после обработки каталазой; N - титр тиосульфата; v - объем исследуемой воды.

В том же образце воды находили сумму окислителей (без кислорода). Этот показатель был определен по степени окисления KJ в исследуемой воде после 20-минутной экспозиции образца в темноте.

Расчет суммы окислителей (мг-экв/л) производили по формуле

$$\sum_{ок} = \frac{(a_x - a_0) \cdot N \cdot 1000}{2 \cdot v} \quad \frac{\text{мг-экв}}{\text{л}},$$

где a_x - количество тиосульфата (мл), которое пошло на титрование исследуемой воды; a_0 - поправка на реактивы.

Объектом изучения служила вода из четырех экспериментальных бассейнов. В два из них (№ 8, 10) в течение лета 1968 г. ежедневно вносили одноатомный фенол из расчета 1 мг/л, а два другие (№ 7 и № 9) были контрольными. Исследования были начаты 12 сентября 1968 г., т.е. на завершающем этапе эксперимента. К этому времени вода в бассейнах с фенолом резко отличалась по ряду химических показателей от воды в контрольных бассейнах (табл. 43).

Таблица 43

Химическая характеристика воды с фенолом (бассейны № 8, 10) и воды из контрольных бассейнов (№ 7, 9)

№ бассейнов	Цветность в град.	pH	O ₂ мг/л	Окисляемость мг O ₂ /л		БПК	HCO ₃ ⁻ мг-экв/л	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Na ⁺⁺	K ⁺	Cl ⁻
				перманганатная	биокро-матная							
7	25	9,5	12,8	10,02	28,6	0,9	1,16	14,4	6,8	12,1	4,4	4,3
8	70	7,7	2,5	38,24	40,5	12,6	2,60	41,2	7,8	10,6	4,6	3,9
9	30	9,6	13,2	10,94	28,6	1,0	1,20	13,2	9,1	14,3	4,6	4,2
10	90	7,7	4,3	26,44	36,5	3,6	2,71	38,4	9,8	15,3	6,5	4,1

За время опыта в каждый бассейн было внесено по 100 мг/л C₆H₅OH. Для полного окисления 100 мг фенола до углекислоты и воды (C₆H₅OH → 6CO₂ + 3H₂O) необходимо 224 мг O₂. В опыте было установлено, что при окислении 100 мг C₆H₅OH в дистиллированной воде перманганатом калия расходуется 210 мг O₂, или 93,7% от ко-

личества O_2 , необходимого для полного окисления. Полное биохимическое потребление O_2 водой, содержащей продукты распада фенола, в конце периода наблюдения составило 3,6 мг/л O_2 для бассейна № 10 и 12,6 мг/л O_2 - для бассейна № 8. Для контрольных бассейнов эта величина равнялась 0,92-1,0 мг/л O_2 .

Приведенные данные БПК и его константы указывают на то, что 94-98% внесенного в бассейн фенола подверглось распаду. Отмеченные изменения химизма вод в конце периода наблюдения были в известной мере обусловлены продуктами глубокого превращения [252]. Эти соединения были выделены из 50 мл воды и сконцентрированы в зоне капиллярного поднятия на полоске хроматографической бумаги [161]. После разделения с помощью электрофореза сконцентрированного на бумаге органического вещества было обнаружено, что в водах, в которые вносился фенол, содержится сильно окрашенная люминесцирующая желтым цветом фракция. Образование такого сильно окрашенного люминесцирующего вещества характерно для продуктов глубокого окисления C_6H_5OH [94].

Результаты определения перекиси водорода и суммы окислителей представлены в табл. 44. В воде бассейнов № № 8 и 10 обнаружены более высокие (в 3-5 раз) концентрации H_2O_2 по сравнению с водой контрольных бассейнов. Сумма окислителей в двух опытных бассейнах (средние значения для бассейна № 8 $4,0 \cdot 10^{-3}$ мг-экв/л, для бассейна № 10 - $18,7 \cdot 10^{-3}$ мг-экв/л) дала более расходящиеся значения.

Таблица 44

Содержание H_2O_2 и суммы окислителей (без O_2) в воде с фенолом (бассейны № № 8,10) и в контрольных бассейнах (№ № 7,9)

№ № бассейна							
7		8		9		10	
H_2O_2 мкг/л	$\Sigma_{ок}$ мкг-экв/л	H_2O_2 мкг/л	$\Sigma_{ок}$ мкг-экв/л	H_2O_2 мкг/л	$\Sigma_{ок}$ мкг-экв/л	H_2O_2 мкг/л	$\Sigma_{ок}$ мкг-экв/л
64	2,7	83	3,9	44	1,9	224	11,0
31	1,9	80	2,6	7	1,9	92	14,0
39	2,4	89	3,3	43	5,0	118	28,0
37	2,3	76	4,8	40	3,1	132	31,4
		92	4,5			99	27,9

Средние данные для контрольных бассейнов незначительно отличались друг от друга: для бассейна № 7 - $2,3 \cdot 10^{-3}$ мг-экв/л, для бассейна № 9 - $2,9 \cdot 10^{-3}$ мг-экв/л. Образование перекиси водорода в водоеме рассматривается как результат фотохимических реакций или как продукт жизнедеятельности водорослей.

Содержание H_2O_2 в воде поверхностного слоя Ивильковского и Рыбинского водохранилищ, определенное в период массового развития водорослей в пиках цветения, не превышало 50–60 мкг/л, а концентрация H_2O_2 в бассейнах с фенолом оказалась в 1,5–2 раза выше.

Биомасса фитопланктона в бассейнах с фенолом была незначительной, что не позволяет отнести высокое содержание в них H_2O_2 только за счёт жизнедеятельности водорослей.

В качестве одного из возможных путей первичного превращения фенола может быть реакция феноксильного радикала, образовавшегося в результате отщепления атома водорода от C_6H_5OH с растворенным в воде кислородом:



Эта реакция протекает с большой скоростью и даёт начало цепи окислительного процесса, в котором образуется гидроперекись



Перекись водорода образуется при дальнейшем развитии реакции. В специально поставленных опытах было обнаружено, что H_2O_2 распадается при хранении образца воды в склянке в темноте в течение 3–5 часов, что указывает на участие в образовании перекиси водорода реакции фотоокислоразложения.

Рассмотрим роль фенола в цепном окислительном процессе. Фенол по своим химическим свойствам относится к антиокислителям, т.е. веществам, тормозящим цепной окислительный процесс. Но антиокислительная активность фенола ниже, чем у альфа-нафтола, о-крезола и дифениламина. При проверке антиокислительной активности фенола, очищенного от продукта его окисления, оказалось, что его способность тушить хемилюминесценцию в системе люминол – феррицанид – $H_2O_2^*$ прямо пропорциональна вводимой в исследуемую воду концентрации C_6H_5OH .

При введении фенола, не очищенного от продуктов его окисления, было выяснено следующее. Введение фенола снижает, как это свойственно ингибитору, интенсивность хемилюминесценции, однако вслед за этим скорость реакции окисления увеличивается. Ускорение реакции окисления показывает, что количество свободных радикалов в исследуемой воде после введения фенола с продуктами его распада возрастает. Вероятно, на ход реакции влияют продукты распада фенола, действие которых на цепной окислительный процесс противоположно действию очищенного фенола [210, 211, 213, 252].

В следующей серии опытов была исследована зависимость интенсивности хемилюминесценции в системе люминол–феррицанид – H_2O_2 в присутствии фенола от температуры. Было обнаружено, что с повышением температуры до 50° интенсивность хемилюминесценции в системе растёт. После введения $4,4 \cdot 10^{-8}$ м C_6H_5OH в водную среду (систему люминола) при температуре 20° интенсивность хемилюминесценции

*) Методика определения антиокислительной активности вод альколов в работе [150].

увеличивалась в 2,5 раза, по сравнению с интенсивностью свечения при 12°, а при температуре 30° - в десять раз. При введении фенола с продуктами его распада в нагретую до 30° систему с люминолом роль окислительных продуктов в усилении цепного окислительного процесса резко возрастает.

Таблица 45

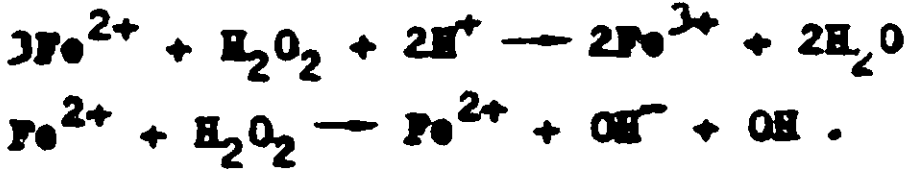
Влияние фенолсодержащих вод на интенсивность химилуминесценции системы люминола. Контроль: дистиллированная вода и вода бассейна № 9

Добавленный реактив	Интенсивность химилуминесценции в единицах шкалы самодиска ЭПП-09	
	До внесения реактива	После внесения реактива
Дистиллированная вода	35	9
Дистиллированная вода + + 1·10 ⁻⁸ м С ₆ Н ₅ ОН	35	12
Вода бассейна № 8	35	110
Вода бассейна № 9	35	25
Вода бассейна № 10	35	87
Вода бассейна № 8 + + 10 ⁻⁸ м FeCl ₂	35	230
Вода бассейна № 10 + + 10 ⁻⁸ м FeCl ₂	35	300

Эффект увеличения интенсивности химилуминесценции был получен при добавлении в систему люминол-феррицианид - Н₂О₂ 3 мл воды из бассейнов № 8 и 10 (табл.45).

При введении в систему с люминолом воды из бассейнов № 8 и 10 интенсивность химилуминесценции возрастала в два-три раза.

При введении контрольной воды № бассейна № 9 и дистиллированной воды отмечалось снижение интенсивности свечения за счет некоторого разбавления системы. Добавки хлористого железа в воду, содержащую фенол, резко усилили интенсивность свечения. Замкнутое железо разлагает перекись с образованием свободных радикалов:



Добавки хлористого железа ускоряли распад перекиси, содержащейся в воде бассейнов № 8 и 10, и тем самым увеличивали концентрацию радикалов в системе, что выражалось в виде интенсивной вспышки химилуминесценции при введении фенолсодержащей воды совместно с хлористым железом.

О возможности протекания в водной среде реакции окисления по цепному типу

Механизм реакций, протекающих по цепному свободнорадикальному типу в основном изучался в неводных средах [10, 21, 48, 150]. Считают, что вода как среда с развитыми водородными связями, не благоприятствует протеканию цепных реакций [67]. Радикал HO_2^\cdot обладает амфотерными свойствами и в воде в зависимости от pH может находиться в виде HO_2^\cdot ; O_2^\cdot ; H_2O_2^+ . Наблюдается резкое отличие между константами скоростей диспропорционирования гидроперекисных радикалов в органических растворителях и в воде. Это объясняется тем, что в воде радикалы HO_2 связаны водородными связями $\text{HO}_2 \dots \text{HOH}$; $\text{O}_2\text{H} \dots \text{O} \begin{smallmatrix} \text{H} \\ \diagup \\ \text{H} \end{smallmatrix}$. Это резко снижает скорость реакции между ними [48].

При решении вопроса о том, как протекает реакция в природной воде, необходимо учитывать её отличие от дистиллированной воды. В ней находятся вещества во взвешанном и эмульгированном состоянии, которые могут ускорять и изменять ход реакций.

Н.И. Соломко [173] показал, что в водных эмульсиях увеличивается скорость инициирования автоокисления углеводородов и полимеризации стирола. Реакция происходит на поверхности раздела фаз. Экспериментально показано, что в водной фазе константы роста и срыва цепи остались теми же, что и в углеводородной среде. Скорость инициирования возрастает при увеличении частоты встряхивания.

Инициированные и ингибированные реакции окисления

В живых клетках осуществляется несколько типов свободнорадикальных реакций, с помощью которых регулируются различные стороны общего метаболизма [22, 66]. Нами исследования показали, что в водах открытых водоёмов содержится, помимо O_2 , некоторое количество перекисей и других окислителей, которые усиливают окисляющую способность O_2 .^{*} В табл. 50 приведены данные о содержании H_2O_2 , суммы окислителей в воде Волги от Рыбинского водохранилища до Астрахани. Одним из источников поступления перекиси является водоросли. Исследования Лукиной и Смирельникова [107] были посвящены вопросу влияния фотосинтетической активности на ингибиторы свободнорадикальных процессов. Существует большая группа веществ (антиоксидантов), способных тормозить свободнорадикальные превращения [44]. В опытах ингибирующее действие антиоксидантов промышленных сточных вод оценивалось на основании снижения яркости хемилюминесценции.

* Об определении некоторых ингибиторов (Fe^{2+}) химическим методом см., например, работу Г.А. Соломина и Н.Г. Фесенко [174].

ции и изменения длительности свечения по отношению к контролю, в который антиоксидант не вносился. Фотосинтетическая активность хлореллы оценивалась по выделению кислорода.

Опыты показали, что фотосинтетическая деятельность водорослей сопровождается выделением веществ, стимулирующих хемилюминесценцию реакции люминола. Такой же эффект обнаружен в среде с микроорганизмами [286] . Окисление в этом случае связано с образованием свободных радикалов. Также было установлено, что в процессе культивирования хлореллы происходит снижение ингибирующей активности веществ, содержащихся в промышленных стоках. Этот процесс усиливается, если условия выращивания культуры оптимальны.

В систему входят: перекись водорода-катализатор (красная кровяная соль), люминол, известный своей способностью ярко люминесцировать при рН среды более 8,5. Эти реактивы в количествах, указанных ниже, прибавляли к исследуемой воде или питательной среде с культурой водорослей. Возникающие при этом изменения хемилюминесценции отражали ингибирующую способность данной среды. Методика определения ингибирующей способности среды была следующей: 10 мл исследуемого раствора наливали в пробирку и в неё прибавляли необходимые реактивы: 1,0 мл 5% раствора красной кровяной соли; 1,0 мл 0,1% раствора гидразида 3-аминофталевой кислоты (люминола); 0,6 мл 0,1% раствора H₂O₂ подкисливали 1-2 каплями 0,1 н раствора КОН до рН 8,5-9,0. В первой серии опытов было прослежено влияние фотосинтетической активности водорослей на хемилюминесценцию люминола в дистиллированной воде. С этой целью измеряли яркость и длительность хемилюминесценции дистиллированной воды до и после культивирования в ней водорослей. После внесения культуры водорослей в дистиллированную воду, особенно после восьмичасовой экспозиции на свету, яркость и длительность хемилюминесценции воды возрастают (табл.46).

Таблица 46

Хемилюминесценция и фотосинтез водорослей, культивируемых на дистиллированной воде

№ № опытных склянок	Количество O ₂ в мг/л в час	Хемилюминесценция		Длительность визуально наблюдаемого свечения 1 час
		Яркость в условных единицах в первую мин. регистрации	% от контроля	
1	0,066	30	230	59
2	0,066	27	270	59
3	0,044	21	150	55
4	0,044	24	184	59
Контроль		12 (13)	100	55

Фотосинтетическая активность водорослей в дистиллированной воде крайне невелика. Вместе с тем жизнедеятельность водорослей в этих условиях сопровождается выделением в воду веществ, усиливающих хемилюминесценцию люминола.

Усиление яркости свечения может быть связано с поступлением в воду легко окисляющихся органических веществ. А.А. Пономаренко (1955)*) отмечает, что прибавление в раствор 4,5 мг глюкозы усиливает яркость свечения люминола в два раза. Окисление глюкозы происходит с участием свободных радикалов. При внесении в люминесцирующую систему 1 мл дистиллированной воды, содержащей субстрат, выделяемый хлореллой, яркость свечения, как правило, возрастает. Особенно значительно яркость свечения возрастала в первые две минуты внесения субстрата.

Наблюдение хемилюминесценции в питательной среде Тамия оказалось затруднительным в связи с тем, что среда обладает значительной ингибирующей активностью. Культивирование хлореллы и измерение яркости свечения проводили на разбавленной среде 1/10, 1/20 Тамия. И в этом случае обнаружено, что яркость и длительность хемилюминесценции в процессе фотосинтеза возрастает (табл.47).

Таблица 47

Фотосинтетическая деятельность водорослей в средах разной ингибирующей активности

Варианты опыта	Дистиллированная вода		Среда 1/10 Тамия	
	Количество мг O ₂ на 1 л в час	% от контроля	Количество мг O ₂ на 1 л в час	% от контроля
Контроль ж)	1,06	100,0	0,76	100,0
Ноксохимический завод	0,22	20,6	0,72	98,0
Городской коллектор	0,74	71,1	1,16	151,0
р. Мексна	0,44	40,0	0,88	114,0

ж) Контролем в опытах с дистиллированной водой служила полная среда Тамия.

Возрастание яркости свечения может быть вызвано двумя причинами: усвоением хлореллой соединений, входящих в состав среды, и выделением в раствор продуктов, способных инициировать окисление люминола.

*) См. обзор В.Е. Сивильных, 1968 [162].

В опытах с определением ингибирующей активности фенолсодержащих вод объектами исследования служили шесть образцов стоков коксохимического завода Череповецкого металлургического комбината до и после очистки. Пробы были отобраны 25-26/У и 3-4/УП-1967 г. Содержание летучих фенолов в надсмольной воде до очистки составляло 2,2-2,5 г/л, после обесфеноливающего скрубера - 300-500 мг/л. После смешивания с бытовыми водами их количество уменьшилось до 15,6-26,6 мг/л. Помимо одноатомных фенолов и полифенолов, заводские стоки содержали цианиды, роданиды, смолы, которые ингибирующим действием в реакции хемиллюминесценции люминола не обладают. Для сравнения была взята вода городского коллектора после биологической очистки (фенолы 0,1-0,05 мг/л) и вода из р. Шексны в пункте Вахново, где по данным общего химического анализа влияние стоков Череповца не прослеживается. В результате определения фотосинтетической активности было отмечено, что хлорелла не способна к продукции кислорода при культивировании в заводских стоках (разбавление 1/100) до их очистки и в очищенных стоках после обесфеноливающего скрубера при их разбавлении 1/100, т.е. в таких условиях, при которых резко выражены ингибирующие свойства среды и её состав отличается от обычного. Разбавление промышленных стоков бытовыми водами, содержащими азот, фосфор и другие элементы минерального питания, повышает фотосинтетическую деятельность водорослей.

Во всех опытах со сточной водой городского коллектора и коксохимического завода, разбавленной бытовыми водами, отмечено значительное подавление фотосинтеза. В тех же образцах вод, разбавленных средой Тамия, фотосинтез значительно возрастал. В наибольшей степени это явление наблюдалось в опыте со сточными водами городского коллектора г. Череповца.

Хемиллюминесценция в разбавленном 1/100 образце надсмольной воды и в воде после обесфеноливающего скрубера отсутствовала. В образце воды коксохимического завода после очистки и разбавления бытовыми водами хемиллюминесценция по яркости и продолжительности весьма невелика. Яркость сточной воды после биологической очистки была в три раза выше, чем яркость стока завода, а визуально наблюдаемая продолжительность свечения увеличилась в семь раз. Продолжительность хемиллюминесценции вод р. Шексны была в шестьдесят раз больше, чем время свечения неразбавленных стоков, поступающих на очистку.

Поступление в водоём промышленных и бытовых стоков, содержащих ингибирующие вещества, резко снижает хемиллюминесценцию природных вод. В процессе фотосинтеза интенсивность хемиллюминесценции возрастает. Усиление яркости свечения зависит от условий культивирования хлореллы. Проведенные опыты позволили выяснить, что наблюдавшееся ранее усиление яркости свечения вод Рыбинского водо-

хранилища во время цветения можно отнести за счёт угнетения фотосинтетической активности водорослей.

Фотосинтетическая активность водорослей в условиях кратковременного опыта (8 час.) проявляется даже при весьма значительном ингибировании среды, если в ней присутствуют необходимые для её развития элементы минерального питания.

Хлорелла в исследованных водах находилась в виде легкооседающей взвеси. Во время экспозиции на свету склянки через каждые 1,5 часа встряхивали, что обеспечивало равномерную освещённость культуры. Измерение хемилюминесценции проводили через полтора часа после последнего встряхивания, когда клетки водорослей оседали на дно.

Полученные результаты по измерению яркости и длительности свечения оказались одинаковыми с данными образцов вод, в которых хлорелла удалялась из раствора центрифугированием. Это даёт основание считать, что хемилюминесценция отражает изменения, происходящие в среде под действием хлореллы, но не изменения в самих клетках водорослей. В процессе жизнедеятельности хлорелла выделяет в среду ряд соединений и прежде всего кислород. Обогащение раствора кислородом неизменно приводит к усилению хемилюминесценции, что связано с появлением перекисных радикалов и с более высокими выходами свечения при рекомбинации перекисных радикалов. Перекись водорода, прибавляемая к раствору как необходимый компонент люминесцирующей системы, не заменяет растворённый в воде кислород, который также обязательно необходим для светоспуска. Резко увеличивают интенсивность испускаемого света соединения, служащие источниками свободных радикалов.

Антиокислители находят всё более широкое применение в различных отраслях промышленности. К этой весьма разнообразной по химическому строению группе веществ относятся соединения, которые замедляют или полностью подавляют химическое окисление органических веществ молекулярным кислородом. Антиокислители вводят в виде добавок при производстве искусственного волокна, каучука, пластмасс. Они используются также для торможения процесса окисления жиров и жирокислотных продуктов. Некоторые из них обладают резко выраженными антисептическими действиями.

Наибольшее распространение в промышленности получили следующие антиокислители: ароматические амины, фенолы, эфирыгалловой, салициловой, бензойной кислот, эфиры фосфористой и пирокатехинфосфористой кислот, тиосоединения бензофенов, тиомочевина и мочевины [124]. Антиоксиданты обладают биологической активностью. Они оказывают тормозящее влияние на деятельность ферментов, участвующих в процессе дыхания, активирующих водород и восстановление коэнзимов [44].

В качестве примера высокого содержания антиоксидантов в сточных водах могут служить данные исследования сточных вод некоторых производств г. Калуги (табл. 48).

Таблица 48

Характеристика сточных вод некоторых производств г.Калуги
(23-24/I-1967 г.)

Наименование предприятия	БПК ₅	Эфирорастворимые вещества	Фено- лы	Бихромат ная окис ляемость	Порог запаха
		мг/л			
Комбинат синтетических душистых веществ	110,4	42,8	370,0	194,0	1:200000
Турбинный завод	13,3	11,8	26,4	84,6	1:150
Завод автомотоэлектрооборудования	19,7	21,3	7,2	41,1	-
Городской коллектор	103,9	38,2	96,0	267,0	1:30000

Весьма высоко содержание в стоках СДВ фенолов; они обладают очень резким ароматическим запахом. Ароматический запах сохраняется в воде р. Оки, куда сбрасываются сточные воды городского коллектора. Во время наблюдений, проводимых на Оке летом 1965 г., запах отчетливо ощущался в отдельных пробах воды на расстоянии 5-9 км ниже города. В числе душистых веществ в стоках содержатся эфиры салициловой, антралиловой, бензойной кислот, обладающие по литературным данным антиокислительными, а также антисептическими действиями.

При прибавлении реактивов к образцу сточной воды комбината СДВ и городского коллектора хемилюминесценция исчезала тотчас после смешения всех ингредиентов с водой. При разбавлении дистиллированной водой (1:100) первого образца, а четвертого - (1:50) визуально наблюдаемая длительность хемилюминесценции увеличилась до 5-7 минут, в то время как в чистой воде длительность свечения составляла 20-25 минут.

Тушение хемилюминесценции антиокислителями было отмечено также и при исследовании вод завода автомотоэлектрооборудования и турбинного завода. Хемилюминесценцию неразбавленной сточной воды этих предприятий наблюдали визуально. Длительность свечения сточной воды завода автомотоэлектрооборудования составляла 7 минут, а турбинного завода - 4 минуты.

Для сравнительного выражения антиокислительной активности вод исследованных предприятий была взята кратность разбавления до поро-

га отсутствия тушения, т.е. до такого разведения образца, при котором длительность и яркость хемилюминесценции исследуемой воды соответствовала длительности свечения и яркости биодистиллированной воды. Полученные результаты представлены в табл.49.

Таблица 49

Относительная антиокислительная активность сточных вод предприятий г. Калуги

Предприятие	Кратность разбавления до порога отсутствия тушения
Комбинат СДВ	I : 1500
Турбинный завод	I : 100
Завод автомотоэлектрооборудования	I : 30
Городской коллектор	I : 700

Наиболее высокая антиокислительная активность обнаружена в сточных водах комбината СДВ и городского коллектора. Антиокислительная активность стоков турбинного завода в 15 раз, а завода автомотоэлектрооборудования в 50 раз меньше, чем антиокислительная активность сточных вод СДВ. Одной из возможных причин проявления антиокислительной активности сточных вод могут быть содержащиеся в них в очень большом количестве фенолы, сложные амины. Кроме того, в составе сточных вод комбината СДВ содержатся многие другие антиоксиданты, например, производные салициловой и антракилоновой кислот. Но определить содержание этих веществ в воде с помощью хемилюминесцентного метода нельзя, несмотря на то, что они обладают способностью тушить люминесценцию, возникающую в процессе окисления люминола.

Сточные и загрязненные воды открытых водоёмов представляют весьма сложную по составу смесь веществ, к тому же меняющуюся от условий технологии, количества и предварительной очистки стоков. В то же время антиокислительная активность отдельных соединений различается на 2-3 порядка. Зависимость между степенью снижения интенсивности хемилюминесценции растворов и концентрацией одного или нескольких антиокислителей может быть определена с довольно большой точностью, но в более сложной смеси эта связь утрачивается. Таким образом, в данном случае может идти речь только о суммарной оценке антиокислительной активности без определения концентрации антиокислителей.

При этом необходимо учесть, что в некоторых природных и производственных водах, помимо антиокислителей, содержатся инициато-

ры цепного окислительного процесса: вещества, распад которых идет с образованием свободных радикалов. В частности, к таким соединениям относятся персульфаты аммония, натрия, бария и др. Все эти вещества хорошо растворяются в воде. Инициаторы окислительного процесса в растворе повышают яркость хемилюминесценции люминола. Таким образом, наблюдаемая яркость свечения исследуемого образца воды является результатом двух противоположно направленных процессов: ингибирования и инициирования.

Торможение окислительного процесса наблюдается в растворе до тех пор, пока не израсходуется весь антиокислитель, который реагирует со свободными радикалами. Скорость этой реакции зависит от температуры: расходование антиокислителя при повышенной температуре происходит быстрее, чем на холоде. Было необходимо выяснить, как изменяется степень тушения хемилюминесценции сточных вод в процессе их хранения.

Образцы вод хранились в бутылках из прозрачного стекла на рассеянном свете при комнатной температуре. Интенсивность хемилюминесценции проверяли через каждые 5 дней с 23 октября по 13 ноября 1966 г., а затем через 10 дней — до 23 декабря 1966 г. Последнее измерение яркости хемилюминесценции было произведено после месячного перерыва 30 января 1967 г.

Ход изменения яркости хемилюминесценции в процессе хранения двух образцов вод Люберецкой станции аэрации, прошедших весь комплекс очистки, был следующим. Значения интенсивности хемилюминесценции записывались каждый раз через 120 сек. после прибавления реактивов. В течение первой минуты после введения перекиси, люминола и катализатора яркость хемилюминесценции уменьшается в 8–10 раз по сравнению с первоначальной; через 120 сек. яркость хемилюминесценции снижается только на 20–40%, по сравнению со значениями, зарегистрированными на 60-ой секунде после прибавления реактивов. В течение дальнейшего времени наблюдения процесс снижения яркости люминесценции идет более плавно, что уменьшает величину ошибки измерения.

В обоих образцах вод отмечен длительный период, во время которого интенсивность хемилюминесценции оставалась на одном весьма низком уровне. В наших наблюдениях этот период составляет около двух-четырех недель, но в действительности он длительнее, так как от момента отбора пробы до исследования ее в лаборатории прошло 10 дней, но в течение этого времени образцы хранились при более низких температурах (6–10°C).

Колебания яркости свечения этого образца и других проб чистых вод близки к изменениям яркости свечения в процессе хранения обдистиллированной воды. Яркость хемилюминесценции сточных вод приближалась к уровню яркости свечения чистой воды только че-

рез два месяца от начала наблюдений или через 70 дней от момента отбора проб. Разрушение легко усвояемой части органического вещества вод при 20°C с участием бактерий происходит в течение 20 дней (Драчев, 1964)². Процесс этот зависит от температуры.

Группа устойчивых к биохимическому и химическому окислению соединений разрушается в течение более длительного срока. Торколь-мен определил величину перманганатной, биохроматной окисляемости БПК₅ и БПК₂₀ для большого числа органических соединений промышленного синтеза, в том числе для анилина, крезолов, нафтолов и других соединений. Многие из этих веществ принадлежат к ингибиторам цепного окислительного процесса [208]. В то же время такие ингибиторы, как крезолы, нафтолы, слабо поддаются окислению как биохимическому, так и химическому. Высокая степень ингибирования цепного окислительного процесса очищенных сточных вод Люберецкой станции аэрации, отобранных во время рейса в октябре 1966 г., показывает, что в Москву-реку вместе со сточными водами станций аэрации попадает большое число соединений, относящихся к синтетическим и природным антиокислителям. А выяснение характера и поведения в водоеме этой группы веществ представляет интерес для решения задач, связанных с технологией очистки сточных вод и при характеристике процессов загрязнения и самоочищения реки.

Хемилюминесценция в видимой области обусловлена процессами ферментативного характера [66]. Необходимо выяснить и количественно оценить участие в процессе минерализации органических веществ ферментативных и свободнорадикальных процессов. Так же, как и во внутренних средах организмов, они представляют собой единую цепь реакций. В этой цепи существенную роль играет перекись водорода. Определения её концентрации на большом участке р. Волги от Рыбинского водохранилища до Астрахани (табл. 50) показали, что её содержание в поверхностном слое воды (0,5 м) колебалось от 40 до 100 мкг/л.

Хотя эти концентрации, по сравнению с содержанием в воде кислорода (7,0–12,0 мг/л), в 100–200 раз ниже, значение перекиси состоит в ее каталитических свойствах при протекании ферментных (действие оксидаз), фотохимических (солнечный свет) и темновых свободнорадикальных реакций. В рейсе по р. Волге было обнаружено, что, помимо перекиси, в воде содержится небольшое количество и других окислителей. Их количество в воде составляло 4–10 мкг/л. Это могут быть некоторые металлы (железо, марганец) переменной валентности.

Продукты фотоллиза оксидов азота образуются в атмосфере ($\text{NO}_2 \xrightarrow{h\nu} \text{NO} + \text{O}$) под влиянием ультрафиолетовой радиации. Подобные соединения также катализируют окислительный процесс. Их участие в окислительном процессе сопрягается с действием перекиси (см., например, систему Фентона). Участие в процессах минерализа-

Содержание H_2O_2 , суммы окислителей и некоторые другие физико-химические показатели воды Волги от Рыбинского водохранилища до Астрахани (3 июля - 1 августа 1969 г.)

№ п/п	Место отбора пробы	Температура, °С	рН	прозрачность в метрах	цветность в градусах	H_2O_2 мг/л	Σ окисл. мг/л	O_2 мг/л	NO_3^- мг/л O_2
1.	Рыбинское водохранилище, Коприно	15,8	7,4	1,6	47	62,2	7,3	8,75	-
2.	Рыбинское водохранилище, Вуторово	15,8	7,4	1,5	47	94,0	9,0	8,78	1,63
3.	Ниже г. Рыбинска	14,8	8,0	0,9	42	62,2	8,7	8,99	-
4.	Ниже г. Ярославля	16,0	7,95	0,8	41	67,4	8,7	-	-
5.	Выше г. Кострома, 10 км	15,0	7,85	0,7	38	54,8	6,3	8,22	1,5
6.	Ниже г. Калуги	16,4	7,85	0,9	38	109,7	9,1	7,46	1,38
7.	г. Брянск	16,4	8,0	0,8	65	94,0	10,6	8,14	1,66
8.	Выше Пущина	17,0	7,8	1,2	63	73,6	6,3	8,30	1,25
9.	Выше плотины Горьковского водохранилища								
10.	Ниже г. Балханы, 2 км	17,8	8,1	1,6	63	57,9	6,0	7,95	-
11.	Устье р. Ока	17,4	7,9	1,0	62	45,4	4,1	8,4	1,98
12.	Ниже Егорова, 2 км	23,0	8,2	0,7	47	73,6	5,7	10,8	-
13.	р. Котловик	21,2	7,95	0,8	63	90,9	8,2	-	-
14.	Ниже г. Чебоксары	21,8	7,30	0,65	170	70,5	8,9	7,13	-
15.	Ниже г. Волжска	22,2	8,1	1,0	57	57,9	7,5	7,65	2,28
16.	Ниже г. Казани, 2 км	21,1	8,1	0,9	62	81,5	10,4	7,65	1,68
17.	р. Кама, у с. Белгородского	21,8	8,1	1,5	58	62,7	4,2	7,5	1,26
18.	Ниже г. Ульяновска	19,8	7,9	0,9	58	59,5	4,6	7,68	1,08
19.	Черемшанская земля	18,7	8,1	0,7	35	73,6	6,1	7,56	1,32
20.	Выше Куйбышевской плотины	17,6	8,3	1,4	38	57,8	5,0	8,19	0,90
21.	Ниже г. Куйбышева	18,5	8,6	2,5	35	56,4	6,7	8,46	-
22.	Выше Изюмская, 10 км	18,5	8,0	1,8	38	84,6	2,8	8,04	1,38
23.	Выше г. Саратова, 10 км	18,6	-	2,0	37	57,9	3,4	7,8	0,72
24.	Ниже г. Саратова, 1 км	19,3	7,9	0,9	35	67,4	8,2	7,74	1,00
25.	Устье р. Еруслама	19,8	8,0	1,5	35	100,3	5,7	7,8	0,78
26.	Ниже г. Тамбова, 1 км	20,3	8,4	0,7	30	59,5	4,8	8,31	0,94
27.	Ниже г. Тамбова, 1 км	20,4	8,2	1,4	35	84,6	10,3	8,46	-
28.	Ниже бьеф Волгоградской плотины	20,5	6,15	1,25	20	72,1	10,4	8,1	0,72
29.	У ст. Емеевка	20,8	8,0	1,5	32	70,5	8,4	6,9	0,90
30.	Выше г. Астрахани	20,9	-	0,9	30	72,1	7,2	8,1	1,51
31.	Ниже г. Астрахани	22,0	8,2	0,9	18	68,9	7,0	8,7	1,44
32.	г. Астрахань	22,0	8,1	0,75	25	105,0	8,8	9,4	0,81
33.	г. Астрахань	22,1	8,4	0,65	2,5	99,3	7,7	-	-

нии микрокомпонентов химического состава вод представляет собой интересную задачу дальнейшего изучения.

Методы и приемы, изложенные в обзоре, могут быть использованы при изучении круговорота вещества и энергии в природных водах, процессов загрязнения и самоочищения водоемов.

В настоящее время роль и свойства воды рассматриваются с несколько иных позиций. Очень долго внимание ученых, занимающихся изучением вопросов общей и физической химии, химической кинетики, было сосредоточено преимущественно на процессах, происходящих в водных средах. Такая направленность была вызвана нуждами химической технологии. Успехи радиационной химии и радиобиологии привлекли внимание к водным растворам, в результате чего была изучена природа активных частиц, возникающих из молекул воды под действием излучения.

Длительное время было известно о способности молекул воды образовывать упорядоченные структуры [3, II], но лишь в последнее время изучена их роль в некоторых процессах, которые протекают в средах [36] и в природной воде [II]. Возникло понятие "поливода". Этой модификации воды присущи особые свойства. Сейчас важно, чтобы успехи в изучении химии водных растворов нашли отражение в познании процессов, происходящих в природных водах, использовались при разработке научных основ управления качеством воды в водоемах.

Свойства природной воды в водоеме отличаются от той же воды, помещенной в склянку, необычное протекание химических процессов в морской воде привело к мысли о возможном присутствии в ней органических катализаторов или ферментов [14].

С.М. Драчев (1964)², М.А. Руфель [144] показали, что скорость распада органического вещества в водоеме значительно выше, чем при определении БПК в склянке. На участие ряда факторов, ускоряющих процессы, обратил внимание А.В. Францев [196]. Чтобы эффективно управлять этими процессами, необходимо знать те первичные реакции и взаимодействия, которые лежат в основе распада органического вещества в природной водной среде. При таком подходе к изучению водоема методы люминесцентного анализа, наряду с другими приемами химической физики, оказываются незаменимыми.

Роль промежуточных соединений, протекание реакций, участвующих в самоочищении водоемов, систематически изучаются В.Т. Каплиным [76] и его сотрудниками [77, 101].

Наиболее сложным в этом направлении оказывается выяснение тех реакций и взаимодействий, в которых участвуют водные организмы. Во многих работах, касающихся изучения превращения веществ в водоемах, природная вода рассматривается как физико-химическая система. Вероятно, более правильно рассматривать природную воду как биохимическую систему.

мическую систему, на которую одновременно воздействуют биологические и физико-химические факторы. В изучении процессов, происходящих в природной воде, приемлемы те же подходы и методы, которые применяются при изучении живых организмов. Выступает роль ферментных систем и биологически-активных соединений. Ферментативные реакции безызлучательны. Хемилюминесценция биологических систем в видимой области имеет неферментную природу [2, 105] . Последние исследования [215] показали, что хемилюминесценция может сопутствовать деятельности ферментных систем. Ферментативные реакции сопровождаются освобождением меньших количеств энергии, чем реакции окисления, идущие с участием свободных радикалов.

Предполагается, что ферментативные реакции сопровождаются излучением в инфракрасной области. Дальнейшие исследования должны быть, по нашему мнению, направлены на разработку методов, которые позволили бы выделить реакции распада, протекающие в природной водной среде и связанные с организмами. Необходимо продолжать накопление экспериментальных данных в направлении, которое представлено работами, использованными в настоящем обзоре.

1. Агавердиев А.Ш., Тарусов Б.Н. Сверхслабая химилуминесценция стеблей пшениц в зависимости от температуры. "Биофизика", т. 10, вып.2, 1965.
2. Азизов Ю.М., Козлов Ю.Н., Диктенштейн Г.И., Пурмаль А.П. О возможности регистрации конформационных превращений ката-лазы химилуминесцентным методом. "Биофизика", т.12, вып. 3, 1967.
3. Алексин О.А. Общая гидрохимия. Гидрометеоиздат, Л., 1948.
4. Асатiani В.С. ферментные методы анализа. Изд-во "Наука", 1968.
5. Ахрем А.А., Кузнецова А.И. Тонкослойная хроматография. Изд-во "Наука", М., 1965.
6. Бабушкин А.А., Бакунин П.А., Королёв Ф.А., Левшин Л.В., Про-кофьев В.К., Стриганов А.Р. Методы спек.рального анализа. Изд-во МГУ, М., 1962.
7. Бедер Р.Г., Гуд Д.В., Смит Дж.Б. Исследования растворенного органического вещества, и его адсорбция отдельными частицами в морской воде. Сб. "Геохимический симпозиум при У Всемирном нефтяном конгрессе". Госнаучтехиздат, М., 1960.
8. Бейсова М.П., Семёнов А.Д., Лопатина Л.Н. К люминесцентному определению хлорофилла и феофитина в фитопланктоне. "Гидро-химические материалы", т. 51, 1961.
9. Белов В.Н., Дильман Г.А., Крохин Н.Г., Петров Л.Н., Скворцо-ва Н.И. Химия и технология душистых веществ. М., 1965.
10. Березин И.В., Денисов Е.Т., Эмануэль Н.М. Окисление циклогек-сана. Изд-во МГУ, М., 1962.
11. Блох А.М. Структура воды и геологические процессы. Изд-во "Недра", 1969.
12. Блюменфельд Л.А., Пурмаль А.П. Железопорфирины. В сб. "Фер-менты", Изд-во "Наука", М., 1964.
13. Богданов Ю.А., Лисицин А.П. Распределение и состав взвешенно-го органического вещества в водах Тихого океана. "Океанологи-ческие исследования по программе МГТ", № 18, 1968.
14. Бокова Е.Н., Барсук В.Н., Вербицкая Н.А., Крепс Е.М., Лукья-нова В.С. Об органических катализаторах или ферментах в мор-ской воде. "Архив биол. наук", т. 43, вып. 2-3, 1936.
15. Богатов Г.Б. Электролюминесценция и возможности её примеене-ния. Госэнергоиздат, М-Л., 1960.
16. Борисов П.П., Иванов П.Г., Панова С.В. Изучение природы зем-листого запаха воды р. Москвы. "Учёные записки МГУ", № 71, 1941.
17. Брагинский Л.П., Берёза В.Д., Величко Н.М., Гринь В.Г., Гу-сынская С.Л., Денисова А.И., Литвинова И.А., Сысуева-Антин-

- чук А.Ф. "Пятна цветения", нагонные массы, выбросы сине-зеленых водорослей и происходящие в них биологические процессы. В сб. "Цветение воды". Изд-во "Наукова думка", Киев, 1968.
13. Бреслер С.Е. Введение в молекулярную биологию. Изд-во "Наука", М., 1966.
 19. Брей Э.М., Эванс Э.Д. Углеводороды в нефтематеринских отложениях. В сб. "Органическая геохимия". Изд-во "Недра", М., 1967.
 20. Брей Дж., Уайт К. Кинетика и термодинамика биохимических процессов. Изд-во иностр. литерат. М., 1959.
 21. Бреслоу Р. Механизмы органических реакций. Изд-во "Мир", М., 1968.
 22. Бурлакова Е.Е. О возможной роли свободнорадикального механизма в регуляции размножения клеток. "Биофизика", т. 12, вып. 1, 1967.
 23. Быкова Е.Л., Бродовская А.А., Дудова М.Я. Методы исследования органических веществ подземных вод. Изд-во "Недра", М., 1969.
 24. Буторин Н.В. Гидрологические процессы и динамика водных масс в водохранилищах Волжского каскада. Изд-во "Наука", Л., 1969.
 25. Васильев Р.Ф. Хемилюминесценция в растворах. "Успехи физических наук", т. 89, вып. 3, 1966.
 26. Васильев Р.Ф. Пути преобразования химической энергии в свет при хемилюминесценции в растворах. Сб. "Биоэнергетика и биологическая спектрофотометрия". Изд-во "Наука", М., 1967.
 27. Васильев Р.Ф., Вичутинский А.А. Хемилюминесцентный метод измерения соотношений элементарных констант в реакциях жидкофазного окисления углеводородов. "Докл. АН СССР", т. 145, стр. 1301, 1962, № 6.
 28. Вассоевич Н.Б., Амосов Г.А. Геологические и геохимические улики образования нефти за счёт живого вещества. В кн. "Генезис нефти и газа". Изд-во "Недра", М., 1967.
 29. Веселовский В.А., Секамова Е.Н., Тарусов Б.Н. К вопросу о механизме сверхслабой спонтанной люминесценции организмов. "Биофизика", т. 8, вып. 1, 1963.
 30. Вилькова С.Н. Исследование люминесценции лигнина, полученного из гуаляна. Х. "Прикладной химии", т. 32, вып. 8, 1959.
 31. Владимиров Ю.А., Литвин Ф.Ф. Фотобиология и спектральные методы исследования. Изд-во "Высшая школа", М., 1964.
 32. Владыченский С.А. Опыт применения люминесцентного анализа в почвоведении. "Вестник МГУ", № 10 (серия "Биология"), 1949

33. Володченко В.А., Майкес Л.Н. Токсикологические аспекты люминесцентной дефектоскопии. "Гигиена и санитария", № 5, 1970.
34. Вольнов И. Перекиси, надперекиси и озониды щелочных, щелочно-земельных металлов. Изд-во "Наука", М., 1964.
35. Воронков П.П., Соколова О.К. Гидрохимическая характеристика цветности вод. "Труды ГГИ", вып. 37(91), Л., 1953.
36. Герасимов Я.И., Акишин П.А. (ред.). Строение молекул жидкостей и кристаллов. (Серия "Современные проблемы физической химии"), МГУ, М., 1968.
37. Гительзон И.И., Чумакова Р.И., Филимонов Р.С. и др. Биологическая люминесценция моря. Изд-во "Наука", М., 1969.
38. Голушничий П.И., Гончаров В.Д., Лукин А.Н., Протопопов Х.В. Аппаратура для исследования электролюминесценции и сонолюминесценции жидкостей. Институт ядерной физики, Новосибирск, 1968.
39. Горяченкова. Основные принципы препаративного выделения и очистки ферментов. В сб. "Ферменты". Изд-во "Наука", М., 1964.
40. Грановский С.И. Изменение донной фауны прибрежных зон островов Апшеронского и Бакинского архипелагов Каспийского моря под влиянием нефтяного загрязнения. Автореферат кандидатской диссертации, Баку, 1970.
41. Грузинова Т.Б. География промышленности синтетических красителей в СССР. В сб. "География химической промышленности". Изд-во "Мысль", М., 1967.
42. Гурский Г.В. Взаимодействие акридинов с ДНК. "Биофизика", т. II, вып. 5, 1966.
43. Гурвич А.А. Проблема митогенетического излучения как аспект молекулярной онкологии. Изд-во "Медицина", М., 1968.
44. Данишевский С.Л., Бройтман А.Я. Гигиеническое значение и биологическая активность стабилизаторов. "И. Всес. хим. об-ва им. Менделеева", т. II, вып. 3, 1966.
45. Даниэль С.Ф., Альберти Р. Физическая химия. "Высшая школа", М., 1967.
46. Денюков Л.Г., Мильман Л.С. Упрощенный фотоэлектронный прибор для энзиматического определения АТФ при помощи системы люциферин-люцифераза. "Вопросы мед. химии", т. 12, вып. 5, 1966.
47. Денисов Е.Т., Метелица Д.И. Окисление бензола. "Успехи химии", вып. 9, т. 37, 1968.
48. Денисов Е.Т. Реакции атомов и радикалов друг с другом в жидкой фазе. "Успехи химии", т. 39, вып. 1, 1970.
49. Деньгина Р.С. О применении люминесцентного метода для регистрации загрязнения водоемов сточными водами целлюлозно-бумажных предприятий. В сб. тезисов "Второе совещание по вопросам круговорота веществ и энергии в озёрных водоемах", ч. 2, пос. Астраханское, 1969.

50. Дякун П.П. К вопросу о применении тонкой структуры спектров флуоресценции для определения канцерогенных веществ. "Вопросы онкологии", т. VI, № II, 1960.
51. Добрянский А.Ф. Геохимия нефти. Госнаучтехиздат, Л.-М., 1948.
52. Драчёв С.М. Клязьминское водохранилище как источник питьевого водоснабжения. В сб. "Санитарная характеристика водоемов" Изд-во АМН СССР, М., 1951.
53. Драчёв С.М., Синельников В.Е. Современные проблемы санитарной охраны внутренних водоемов. "Вестник АМН СССР", № 8, 1967.
54. Драчёв С.М. Изменения химического состава и свойств воды р. Москвы в связи с загрязнением и процессами самоочищения. Сб. "Химизм внутренних водоемов и факторы их загрязнения и самоочищения". Изд-во "Наука", Л., 1968.
55. Драчёв С.М., Синельников В.Е. Охрана интенсивно используемых малых рек на примере Москвы-реки. "Вестник МГУ" (серия "География"), № 4, 1968.
56. Дозиметрическая, радиометрическая, электронно-физическая аппаратура и её элементы (каталог). Атомиздат. Отдел технической информации в/о "Изотоп", М., 1968.
57. Добролюбовская Т.С. Люминесцентные методы определения урана. Изд-во "Наука", М., 1968.
58. Дудова М.Я., Дитерихс О.Д. Определение ароматических углеводов в подземных водах экстракционным методом. Гидрохимические материалы, т. 50, 1969.
59. Зубицкий Ю.Н. Метод люминесцентной микроскопии в микробиологии, вирусологии и иммунологии. "Медицина", Л., 1964.
60. Ермолаев В.Л. О люминесценции ароматических альдегидов и кетонов. "Оптика и спектроскопия", т. I, вып. 4, 1956.
61. Ермоленко И.Н. Спектроскопия в химии окисленных целлюлоз. Изд-во АН БССР, 1959.
62. Ермолович Л.П., Тамбиев А.Х., Телитченко М.М. Изучение летучих метаболитов актиномицетов и сине-зелёных водорослей с помощью газовой хроматографии, масс-спектропии, электрохемилюминесценции и ранняя реакция на них пресноводных рыб. Тезисы симпозиума "Летучие биологические активные соединения биогенного происхождения". Изд-во МГУ, 1968.
63. Ершова К.П., Минц И.М. Определение 1,2-бензантрацена в сточных водах нефтехимических производств. "Гигиена и санитария", № 9, 1968.
64. Куравлёв А.И., Цымлёв О.П. Образование электронных возбужденных состояний в воде при действии низких терапевтических интенсивностей (псевдокавитационных) ультразвука. "Биофизика", т. 13, вып. 6, 1968.

65. Куравлев А.И. Биокислители и их роль в регуляции окислительных процессов. В сб. "Физико-химические основы авторегуляции в клетках", Изд-во "Наука", М., 1968.
66. Куравлев А.И. Сверхслабое свечение и ферменты. "Успехи современной биологии", т. 69, вып.3, 1970.
67. Сайков Г.Е., Майзус З.К., Эмануэль Н.М. Влияние водородных связей на реакционную способность радикалов. Докл. АН СССР, т.173, № 4, 1967.
68. Зеленин А.В. Люминесцентная цитология нуклеиновых кислот. Изд-во "Наука", М., 1967.
69. Иванов И.И., Кочур Н.А. Определение антиоксидантов в биоплазмах электрохемилюминесцентным методом. "Биологические науки". (Научные доклады высшей школы), № 7, 1969.
70. Иванов К.И. Промежуточные продукты и промежуточные реакции автоокисления углеводов. Гостоптехиздат, М-Л, 1949.
71. Казанский Б.А. Каталитические превращения углеводов. Изд-во "Наука", Л., 1968.
72. Казаченко Л.П., Степанов Б.И. О контуре полос поглощения и люминесценции сложных молекул. Докл. АН СССР, т.3, № 5, 1959.
73. Кадверт Дж.Дж., Питтс Дж.Н. Фотохимия. Изд-во "Мир", М., 1968.
74. Калинин Е.И. Определение квантового выхода некоторых хемилюминесцентных реакций окисления люминола. "Украинский химический журнал", т. 33, вып.7, 1967, стр. 749.
75. Казначеев В.П., Набиулин М.С., Чернявский Е.Ф. Феномен люминесценции в биохимическом механизме действия радоновых вод источника "Белокуриха". В сб. "Биоэнергетика и биологическая электрофотометрия". Изд-во "Наука", М., 1967.
76. Калинин В.Т. Превращение органических соединений в водоёмах. "Гидрохимические материалы", т. 45, 1967.
77. Калинин В.Т., Семенченко Л.В., Иванов Е.Г. Распад фенольной смеси в природной воде. "Гидрохимические материалы", т.46, 1968.
78. Карцев А.А. Основы геохимии нефти и газа. Изд-во "Недра", М., 1969.
79. Каталог цветного стекла. Оборониздат, 1967.
80. Кошкин А.Б., Фокин В.А. Люминесцентный микрофлуорометр. "Цитология", т. 10, № 1, 1968.
81. Сауричев Л.С., Ноздрунова Е.М. Роль компонентов воднорастворенного органического вещества растительных остатков в образовании подвижных железоорганических соединений. "Почвоведение", № 10, 1961.
82. Каз М.А., Сидоров Н.К. Спектры флуоресценции нефтей и их фракция. "Ученые записки", Саратов, Госуниверситет, т.40, 1954.
83. Мирсо У.Э., Кузьм К.А., Губерград М.Я. О кинетике окисления фенола и м-крезола молекулярным кислородом в водной среде.

"Журнал прикладной химии", т. 40, № 7, 1967, стр. 1583.

84. Кн Б. (ред.). Новейшие методы исследования полимеров. Изд-во "Мир", М.
85. Киселёв А.В., Михайлов Е.А. Адсорбция углеводородов и хроматографическое разделение их смесей и нефтепродуктов. В сб. "Состав и свойства нефти и бензино-керосиновых фракций" Изд-во АН СССР, М., 1957.
86. Клипсон Н.А. Повреждающее действие свободных радикалов биокаталитических реакций на клетку. Кандидатская диссертация, МГУ, М., 1965.
87. Кожинов В.Ф. Установки для озонирования воды. Изд-во "Литература по строительству", М., 1968.
88. Коллерова Е.В. Химические превращения углеводородов нефти в процессе биохимической очистки нефтесодержащих сточных вод в аэротенках. Автореферат канд. диссертации, Водгео, М., 1967.
89. Кольтгоф И.М., Белчер Р., Стенгер В.А., Матсуяма Дж. Объёмный анализ. Изд-во "Химическая литература", т. 3, М., 1961.
90. Коммилов Н.Ф. и др. Сульфатный чёрный щёлок и его использование. Изд-во "Лесная промышленность", М., 1969.
91. Кондратьев В.П. Свободные радикалы - активная форма вещества. Изд-во АН СССР, М., 1962.
92. Конев С.В. Люминесценция белков. Изд-во "Наука", М., 1964.
93. Кононенко А.А., Григорьев Л.Н., Верхотуров В.Н., Андрейцев А.П., Рубин А.Б. Низкотемпературная приставка для спектрофотометрических абсорбционных и люминесцентных исследований. Научные доклады высшей школы. Изд-во "Биологические науки", № 4, 1969.
94. Кононов М.М., Александрова И.В. Фенольные соединения почвы и их роль в образовании гумусовых веществ. В сб. "Фенольные соединения и их биологические функции". Изд-во "Наука", М., 1968.
95. Красновский А.А., Литвин Ф.Ф. О фотохимии люминесценции красителей. Изд-во "Биофизика", т. 13, вып. 1, 1968, стр. 146.
96. Красовицкий Б.М., Черкасов А.С. Полюки органических люминофоров и люминесцентных материалов. Строение и люминесценция органических веществ. "Ж. прикладной спектроскопии", т. 8, № 4, 1968, стр. 553.
97. Красовицкий Б.М., Болотин Б.М., Переяслова Д.Г. Люминесцентные красители. Журнал Всесоюзного химического общества им. Менделеева, т. II, вып. I, 1966.
98. Кривицкая Л.С. Методы определения нефтепродуктов в воде и возможности применения их для анализа городских сточных вод. В сб. "Научно-техническая конференция по итогам работ за

1968 г. Управление водопроводно-канализационного хозяйства, М., 1969а.

99. Кривидкая Л.С. Применение люминесцентно-хроматографических методов для определения нефтепродуктов в городских сточных водах. "Научно-техническая конференция по итогам научно-исследовательских работ за 1968 г.". М., 1969б.
100. Кривидкая Л.С. Турбиди-хроматографический метод определения нефтяных загрязнений в воде. "Гигиена и санитария", № 5, 1970.
101. Криульков В.А., Каплин В.Т. О механизме распада водорастворимого лигнина под действием ультрафиолетовых лучей. "Гидрохимические материалы", т. 48, 1968.
102. Курбатов М.С., Синельников В.Е. К вопросу о люминесценции некоторых почв Киргизии. "Труды Киргизского научно-исследовательского института земледелия", вып. I, 1957.
103. Кусаков М.М., Шиманко Н.А., Шипкина М.В. Ультрафиолетовые спектры поглощения ароматических углеводородов. Изд-во АН СССР, 1963.
104. Левшин Л.В. Спектроскопическое исследование процессов межмолекулярного взаимодействия в растворах красителей и других сложных органических соединений. "Докт. диссертация", МГУ, М., 1967.
105. Лихтенштейн Г.М., Пурмаль А.П. О хемилюминесценции, сопровождающей каталазный процесс. Биофизика, т. II, вып. 2, 1966.
106. Ломоносов Л.С., Фалькова О.Б. Спектральный анализ. Металлургиздат, М., 1958.
107. Лукина Г.А., Синельников В.Е. Влияние фотосинтетической активности водорослей на ингибиторы свободнорадикальных реакций. "Гидробиолог. ж.", № 2, 1969.
108. Луцарев С.В. Флуоресценция морской воды как метод гидрохимического исследования. В сб. "Методы рыбохозяйственных химико-океанографических исследований", ч. 2, ВНИРО, М., 1968а.
109. Луцарев С.В. Методика исследования свойств флуоресцирующих соединений морской воды. В сб. "Методы рыбохозяйственных химико-океанографических исследований", ч. 2, ВНИРО, М., 1968б.
110. Луцарев С.В. Методы определения органических веществ морской воды. Автореферат канд. диссертации, М., 1969.
111. Маизус Э.К. Роль перекисей в процессах жидкофазного окисления углеводородов. В сб. "Окисление углеводородов в жидкой фазе". Изд-во АН СССР, 1959.
112. Мамедов Х.А. К вопросу о люминесцирующих компонентах нефти. "Х. эксперим. и теор. физ.", т. 26, вып. 5, 1954.
113. Мамедов Х.М. Люминесцентно-спектрографический метод исследования нефтяных фракций. Автореферат канд. диссерт. МГУ, М., 1958.

- I14. Малеюкая С.М., Дроздова Т.В. Геохимия органического вещества. Изд-во "Наука", М., 1964.
- I15. Марзеев А.Н., Хаботинский В.М. Коммунальная гигиена. Изд-во "Медицина", М., 1968.
- I16. Мейер А., Зейтц Э. Ультрафиолетовое излучение. Изд-во иностран. литер., М., 1952.
- I17. Мерлузова Г.Б., Князева Л.Л. Исследование хемилюминесценции термического распада перекиси водорода в воде. В кн. "Биолюминесценция", 1965.
- I18. Методы рыбохозяйственных химико-океанографических исследований. ВНИРО, отдел научн. информ., ч. I, М., 1968.
- I19. Минасян К.В., Вртанесян С.Г., Саркисян А.М., Бадалян М.А. Определение керосина в сточных водах Каджаранской обогатительной фабрики. "Промышленность Армении", № 2, 1969.
- I20. Миронов О.Г. К вопросу о загрязнении вод Чёрного моря нефтепродуктами. В сб. "Динамика вод и вопросы гидрохимии Чёрного моря". Изд-во "Наукова думка", Киев, 1967.
- I21. Михлин Д.М. Пероксиды и пероксидазы. Изд-во АН СССР, М.-Л., 1947.
- I22. Можаев Е.А. Содержание синтетических поверхностно-активных веществ в различных водах. "Гигиена и санитария", № 4, 1970.
- I23. Нагибина И.М., Прокофьева В.К. Спектральные приборы и техника спектроскопии. Машгиз, М.-Л., 1963.
- I24. Нейман М.Б., Миллер В.Б. Механизм действия антиоксидантов. "Х. Всес. об-ва им. Менделеева", т. XI, № 3, 1966.
- I25. Непорент Б.С. Развитие молекулярной спектроскопии в СССР за последние годы. "Успехи физических наук", вып. I, 1959.
- I26. Низамов Н. Спектроскопическое исследование процессов молекулярной ассоциации в растворах ксантоновых красителей и других родственных органических соединений. Автореферат канд. диссерт., МГУ, М., 1969.
- I27. Номикос Л.И., Козлова А.Я., Лазарева М.Н. Влияние сточных вод целлюлозно-бумажной промышленности на химический состав воды и донных отложений природных водоемов. "Материалы II всесоюзного симпозиума по вопросам самоочищения водоемов и смешения сточных вод", Таллин, 1969.
- I28. Носков Ф.С., Авдеевко М.М., Эртте А.П. Конъюгаты сывороточных альбуминов с азокрасителями и их использование для устранения неспецифических реакций при иммунофлуоресцентном анализе. "Х. МЭИ", № I, 1969.
- I29. Овсянник В.В., Феофилов П.П. Кооперативная люминесценция конденсированных сред. "Х. прикладной спектроскопии", т. 7, № 4, 1967, стр. 498.

130. Осетров В.И. О применении цитохимических методов при изучении жизненной активности синие-зелёных водорослей. В сб. "Цветение воды". Изд-во "Наукова думка", Киев, 1968.
131. Партенко В.Г. Липидные перекиси и некоторые аспекты биологического действия. "Успехи соврем. биолог.", т.68, вып.2(5), 1963.
132. Перельштейн Е.И. О механизме окисления фенола в водных растворах под влиянием некоторых факторов самоочищения водоёмов. Автореферат канд. диссерт., Новочеркасск, 1968.
133. Перельман А.И. Живое вещество и водная миграция химических элементов в ландшафте. В сб. "Геохимия ландшафта", вып. 3, М., 1969.
134. Пикулик Л.Г., Машенков В.А. Люминесценция белка клубней картофеля. "И. прикладн. спектроскоп.", т. I, вып. I, 1964.
135. Пименова М.Н., Максимова И.В. Накопление органического вещества в автотрофных культурах водорослей. В кн. "Биология автотрофных организмов", МГУ, М., 1966.
136. Полторак В.А. Люминесцирующие вещества микроорганизмов. Научные доклады высшей школы. "Биолог. науки", № 3, 1968.
137. Попов Г.А. О применении хемилюминесцентного метода для изучения индуцированных окислительных реакций в биосубстрате в зависимости от степени его повреждения. Автореферат канд. диссерт., МГУ, М., 1964.
138. Походенко В.Д. Феноксильные радикалы. Изд-во "Наукова думка", Киев, 1969.
139. Почкин Ю.Н., Массин О.А. О загрязнении открытых водоёмов нитропродуктами. "Казанский мед. ж.", № 3, 1968.
140. Рао К. Химические применения спектроскопии в ультрафиолетовой и видимой областях. Изд-во иностран. лит., М., 1964.
141. Родионова Н.А. О ферментативном разрушении β -индолилуксусной кислоты. "Успехи современной биологии", т. 60, вып. 3(6), 1965.
142. Рахматов М.К., Гафуров Х.Д. Спектры свечения фракций нефтей при низкой температуре. В сб. "Тепловое движение молекул и межмолекулярное взаимодействие в жидкостях и растворах". Самарканд, 1969.
143. Романцева М.Ф., Сытинкова Д.С., Сараева В.В. Определение гидроперекисей в продуктах окисления непредельных углеводородов. "И. аналитической химии", т. 22, № 10, 1967.
144. Руфель М.А. Санитарно-гигиенические условия выпуска сточных вод в водохранилища. В сб. "Гигиена водохранилищ", Медгиз, М., 1961.

145. Самойлович Л.Н., Редькин Ю.Р. Загрязнение р. Сучки 3,4-бензопиреном предприятиями нефтехимической промышленности г.Грозного. "Гигиена и санитария", № II, 1968.
146. Салехинский И.И. Проточная установка для изучения процессов послесвечения облученных растворов белков, аминокислот, красителей и синтетических полимеров. Труды Московского общества испытателей природы, т. XVI, 1966.
147. Свейн Ф.М., Вентерис Г. Распределение флавоноидов и некоторых других гетероциклических соединений в озёрных осадках. Органическая геохимия. Изд-во "Недра", М., 1967.
148. Семёнов А.Д., Бейсова М.П., Лопатина Л.Н. Некоторые вопросы исследования растительных пигментов в водоёме. "Гидрохимич. материалы", т. 49, 1969.
149. Семёнов А.Д., Страдомская А.Г., Зурина Л.Ф. Ускоренный люминесцентно-хроматографический метод определения нефтепродуктов в природных водах. "Гигиена и санитария", № 5, 1970, стр.66.
150. Семёнов Н.Н. Цепные реакции, М., 1934.
151. Семёнов Е.П. Усиление яркости и спектральное преобразование изображения. "Оптико-механическая промышленность", № 7, 1970.
152. Сент-Дьёрдьи. Введение в субмолекулярную биологию, М., 1967.
153. Синельников В.Е. Характеристика органического вещества в природных водах по его люминесценции. "Материалы 18-го гидрохимического совещания". Тезисы. Новочеркасск, 1964.
154. Синельников В.Е. Люминесцентные свойства р. Москвы на чистых и загрязнённых участках. Материалы 19-го гидрохимического совещания. Новочеркасск, 1965.
155. Синельников В.Е., Рыжиков Б.Д. Спектры люминесценции некоторых вод суши. В сб. "Продуцирование и круговорот органического вещества во внутренних водоёмах". Изд-во "Наука", М-Л., 1966.
156. Синельников В.Е. К изучению органического вещества природных вод методом люминесценции. В сб. "Продуцирование и круговорот органического вещества во внутренних водоёмах". Изд-во "Наука", М-Л., 1966а.
157. Синельников В.Е. Применение люминесцентного метода при изучении органического вещества чистых и загрязнённых вод. Тезисы 3-й конференции по химии моря, М., 1966б.
158. Синельников В.Е. О распределении битумоидов в водохранилищах верхней Волги в связи с её загрязнением нефтью. "1-я конференция по изучению водоёмов бассейна Волги", Голытти, 1968а.

159. Синельников В.Е. К применению хемилюминесцентной реакции окисления люминола для характеристики качества воды в водоёме. В сб. "Люминизм внутренних водоёмов и факторы их загрязнения и самоочищения". Изд-во "Наука", Л., 1968б.
160. Синельников В.Е. К оценке антиокислительной активности сточных вод, поступающих в открытые водоёмы. "Научные труды Обнинского отдела Географического общества СССР", ч. 2, Обнинск, 1968в.
161. Синельников В.Е. К изучению окрашенных органических веществ вод люминесцентным методом. "Научные труды Обнинского отдела Географического общества СССР", ч. 2, Обнинск, 1968г.
162. Синельников В.Е. Люминесцентный анализ природных и загрязнённых вод. Гидрометцентр СССР, Обнинск, 1968д.
163. Синельников В.Е., Михайлов В.А. Опыт количественного учёта загрязнения поверхности водоёма битумоидами. "Гидробиологический ж.", № 1, 1969.
164. Синельников В.Е. Определение люминесцирующих красителей, поступающих со сточными водами в р. Клязьму. География центра. Материалы Московского филиала Географического общества СССР, вып. I, 1969а.
165. Синельников В.Е. Методика определения битумоидов в открытых водоемах. "Гидрохимические материалы", т. 50, 1969б.
166. Синельников В.Е. Содержание битумоидов в зарегулированных водоёмах как показатель загрязнения их нефтепродуктами. "Гидрохимические материалы", т. 50, 1969в.
167. Синельников В.Е. Установка для изучения превращения органических соединений в воде хемилюминесцентным методом. В сб. "Материалы к совещанию по прогнозированию содержания органических веществ и биогенных элементов в водохранилищах". Рыбинск, 1969г.
168. Синельников В.Е. К выяснению роли перекисей в процессе окисления фенола в водоемах. В сб. "Материалы к совещанию по прогнозированию содержания органических веществ и биогенных элементов в водохранилищах". Рыбинск, 1969д.
169. Саренко Л.А., Меницкая И.М., Козицкая В.Н. Исследование "синей" жидкости, образующейся при распаде сине-зелёных водорослей. В сб. "Цветение воды". Изд-во "Наукова думка", Киев, 1968.
170. Скопандев Б.А., Бакулина А.Г. Органическое вещество в водах Череповецкого водохранилища. В сб. "Растительность Волжских водохранилищ". Изд-во "Наука", М.-Л., 1966.
171. Смит Х.М. Некоторые важные данные о составе нефти. В сб. "Органическая геохимия". Изд-во "Недра", М., 1967.

172. Сомер В.Г., Семенов А.Д. Фотохимическая деструкция органических веществ при определении фосфора в поверхностных пресных водах. "Гидрохимические материалы", т. 50, 1969.
173. Соломко Н.И. Кинетика и механизм низкотемпературного окисления кумола в гомогенной и эмульсионной средах. Автореферат канд. диссерт. Госуниверситет, Одесса, 1969.
174. Соломин Г.А., Чесенко Н.Г. Определение Fe^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} в кислых водах. В сб. "Современные методы анализа природных вод". Изд-во АН СССР, М., 1962.
175. Спирин Ю.Г. Реакционная способность радикалов и молекул в радикальных реакциях. "Успехи химии", т. 38, вып. 7, 1969, стр. 1201.
176. Стригун Л.М., Вартанян Л.С., Эмануэль Н.М. Окисление пространственно-затрудненных фенолов. "Успехи химии", т. 37, вып. 6, 1968, стр. 969.
177. Стрикленд Дж.Д.Х. Пищевые цепи в море на их начальных звеньях. Оценка современных исследований: пригодны ли они для решения проблем будущего. В кн. "Основные проблемы океанологии", 2-й Международный океанографический конгресс, М., 1968.
178. Сулова Т.Б., Оленев В.И., Владимиров Ю.А. О роли ионов железа в хемилюминесценции липидов. "Биофизика", т. 13, вып. 4, 1968.
179. Тамбиев А.Х., Телитченко М.М., Ермолович Л.П. Летучие биологически активные фракции некоторых гидробионтов как фактор, вызывающий окисление олеиновой кислоты. "Гидробиологический ж.", т. 4, № 2, 1968.
180. Тарасов К.И. Спектральные приборы. Изд-во "Машиностроение", Л., 1968.
181. Тарусов Б.Н. Сверхслабое свечение биологических систем и перспективы его использования. "Сельскохозяйственная биология", вып. 3, 1968а, стр. 336.
182. Тарусов Б.Н. (ред.). Физико-химические основы авторегуляции в клетках. Изд-во "Наука", 1968б.
183. Тарусов Б.Н., Подивода А.И., Муравлев А.И. Изучение сверхслабой спонтанной люминесценции животных клеток. "Биофизика", т. 6, вып. 4, 1961.
184. Геплицкая Т.А. Квазилинейчатый спектр люминесценции как метод исследования сложных природных органических смесей. Автореферат канд. диссерт., М., 1969.
185. Теренин А.И. Фотоника молекул красителей. Изд-во "Наука", М.-Л., 1967.
186. Терни Т. Механизмы реакций окисления-восстановления. Изд-во "Мир", 1968.

187. Тец В.И. О токсичности сине-зелёных водорослей. "Гигиена и санитария", № 10, 1964.
188. Тумерман Л.А.. Применение спектроскопии в биологии и биохимии. "Успехи физических наук", т. 68, вып. I, 1959.
189. Тумерман Л.А., Федорович И.Б. Биолуминесцентный метод определения аденозинтрифосфата. В сб. "Биоэнергетика и биологическая спектрофотометрия". Изд-во "Наука", М., 1967.
190. Топчиев А.В., Мусаев И.А., Шикина М.В., Гальперин Г.Д. Индивидуальные ароматические углеводороды бензиновой фракции нефти и красноцветной толи Небит-Дага. "Докл. АН СССР", т. 91, № 4, 1953, стр. 869.
191. Турро Н. Молекулярная фотохимия. Изд-во "Мир", 1967.
192. Урбах Ю.В. Математическая статистика для биологов и медиков. Изд-во АМН СССР, М., 1963.
193. Федосеева Г.Е., Хесина А.Я. Использование квазилинейчатых спектров люминесценции для количественного определения ряда полициклических углеводородов. "Х. прикладн. спектроскоп.", т. 9, № 2, 1968, стр. 282.
194. Филиппов М.П., Высоцкий Ю.Л. Кювета для люминесцентного анализа при низких температурах. "Заводская лаборатория", т. 29, № 9, 1963.
195. Фортунатов М.А. Цветность и прозрачность Рыбинского водохранилища как показатели его режима. "Труды Ин-та биологии водохранилищ", вып. 2(5), 1959.
196. Францев А.В. Улучшение воды в Угличском отстойном водохранилище. В сб. "Гигиена водохранилищ". Медгиз, М., 1961.
197. Фробинер М. Основы микробиологии. Изд-во "Мир", М., 1965.
198. Хайлов К.М. Элементы экологического метаболизма в прибрежной зоне моря. Автореферат докторской диссертации, М., 1969.
199. Хайлов К.М., Бурлакова З.П. Определение концентрации растворенного органического вещества морской воды методом прямой ультрафиолетовой фотометрии. Тезисы IV конференции по химии моря. Изд-во АН СССР, М., 1968.
200. Чернышев В.И., Телитченко М.М., Козлов Ю.П. Использование метода электрохемилюминесценции для оценки биологической активности токсических продуктов. "Биол. науки", "Научные доклады высшей школы", № 7, 1968.
201. Чулановский В.М. Введение в молекулярный спектральный анализ. Изд. 2, "Гостехиздат", 1951.
202. Шамб У., Сеттерфилд Ч., Вентворс Р. Перекись водорода. Изд-во иностр. лит., М., 1958.
203. Шенченко М.А., Бравенков Г.Б., Касьяничук Р.С. Свойства фракции водного гумуса. "Укр. хим. н.", т. 28, вып. 7, 1962.

204. Шевчук Л.Г., Высоцкая Н.А. Каталитическое окисление замещенных C_6H_6 перекисью водорода. "Д. органич. хим.", т.4, № II, 1968.
205. Шенберг А. Препаративная органическая фотохимия. Изд-во иностран. лит., М., 1963.
206. Шмидт Э. Интерференционные светофильтры. Н/П "Карл Цейс Иена", "Иенское обозрение", № 2, 1962.
207. Школьник М.Я. Микроэлементы и их связь с регуляторами роста растений. "Ж. общей биологии", т. 64, вып. I(4), 1967.
208. Шляпнотх В.Я., Карпухин О.Н., Постников Л.М., Захаров Л.Л., Вичутимский А.А., Цепалов В.Ф. Хемилюминесцентные методы исследования медленных химических процессов. Изд-во "Наука", М., 1966.
209. Щеголев К.В., Петров Э.Г., Лад М.Д. Выявление токсического влияния сточных вод ряда производств кубовых красителей на сапрофитную микрофлору. Симпозиум по водной токсикологии, М., 1969.
210. Эмануэль Н.М., Денисов Е.Т., Майзус Э.К. Цепные реакции окисления углеводородов в жидкой фазе. Изд-во "Наука", 1965.
211. Эмануэль Н.М. Свободно радикальные элементарные процессы в цепных реакциях жидкофазного окисления. "Ж. Всесоюз. химич. об-ва им. Менделеева", 1966.
212. Эрдман Дж.Г. Геохимия высокомолекулярных углеводородных фракций нефти. В сб. "Органическая геохимия". Изд-во "Недра", М., 1967.
213. Эмануэль Н.М. Окисление углеводородов и других органических соединений в жидкой фазе. В сб. "Успехи химии органических перекисных соединений и аутоокисления". Изд-во "Химия", М., 1969.
214. Ярославский Н.Г., Николаева И.И. Новые отечественные спектральные приборы и перспективы их развития. "Оптико-механическая промышленность", № 4, 1970.
215. Яфарова И.О., Веселовский В.А., Тарусов Б.Е. влияние концентрации водородных ионов на свечение проростков. "Вестник МГУ". "Биология", "Почвоведение". № 5, 1968.
216. Andreae W.A. A sensitive method for the Estimation of Hydrogen peroxide in Biological materials. Nature v.173, p.4463, 1955.
217. Alarcon R.A. Fluorometric detection of acrolein and related compounds with m-aminophenol. "Analyt. Chem.", v.40, No II p. 1704.
218. Ardon M. Oxygen. Elementary forms and hydrogen peroxide. N.Y., Amsterdam, 1965.

219. Armstrong F.A.I., Williams P.M., Strickland I.D.N. Photooxidation of organic matter in sea water by ultraviolet radiation: analytical and other applications. "Nature", v.211, No 5048, p. 481, 1966.
220. Armstrong T.A.I., Stearus C.R., Strickland I.O.H. The measurement of upwelling and subsequent biological processes by means of the Technical Autoanalyser and associated equipment. Deep sea Research, v. 14, No 3, p. 381. 1967.
221. Baker R.A., Malo B.A. Water quality characterization traces organics. J. Sanit. Engrg. Div. Am. Soc. civ. Engrs, v. 93, June, 1967, p. 4154.
222. Badger G.M. The Carcinogenic activity. Brit.J.Cancer, No 2(4), 1948, p. 309.
223. Bailey G.M. The chemical basis of carcinogenic activity. Charles. C.Thomas. Publisher Springfield. Illinois, 1962.
224. Bailey Th.E., Asce A.M., Measurement and detection of eutrophication. J. of Sanitary Engrg. Div. SA-8, 1968, p. 121.
225. Barber R.T. Interaction of bubbles and bacteria in the formation of organic aggregates in sea water "Nature", v. 211, No 5046, 1966, pp. 257-258.
226. Bersis D.S. and Nikokavouras J. Discrimination of Chemiluminescent mixture: the Chemiluminescegram. Nature., v. 217, No 5127, 1968, pp. 451-452.
227. Bishop D.F., Stern G., Fleischman M., Marshall L.S. Hydrogen peroxide catalytic oxidation of refractory organics in municipal waste waters. Prepr.Am.Soc. div. Water waste chem. v. 4, No 2, 1964, pp. 85-90.
228. Bishop D.F. and oth. Hydrogen peroxide catalytic oxidation of refractory organics in municipal waste. Industrial and Engineering Chemistry. v. 60, No 1, 1968.
229. Black A.P., Christman R.F. Characteristics of colored surface water. J. Amer. Water. Wks.Ass. v.5, No 6, 1963, pp.753-756.
230. Bowen E.J. Luminescence in chemistry. Van Nostrand. London Princeton, 1968.
231. Brinkman H., CHER C.Vlam. The representation of the emission bands of luminescent solids by gaussian distribution functions. Physics, v. XIV, No 10, 1969, pp. 650.
232. Bruns K. Ozeanologie. Band 3. B.G. Teubner Verlagsgesellschaft. Leipzig. 1968.
233. Chalupa J. Chemische Probleme der gefärbten organischen Stoffe in Oberflächengewässern. Internationale vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie, v. 14, 1968, pp.3-13.

234. Christman R.F. The Chemistry of color in water. The Trend in engineering at the University of Washington. v. 16, No 4, 1964, p. 16.
235. Christman R.F. Report for Research Committee on Color Problems. J. Amer. Wat. Works. Association. v.59, No 8, 1967, p. 1023.
236. Chudoba J., Prasil M., Emmereva H. Zbitkove latky po aktivacnem procesu. 3. Odbouravani aminokyselin a fenolu za kon-tinualnich podminek. Sbornik vysoke chemicko-Technologicke v Prase. F. 13, 1966.
237. Crosby D.G., Leitis E., Winterlin W.L. Photodecomposition of carbamate insecticides. Agricultural and food Chemistry. v. 13, No 3, 1965, pp. 204-207.
238. Danielsson D. and Laurell G. A membrane -filter method for the demonstration of bacteria by the fluorescent antibody technique. 1. A methodological study. 2. The application of the method for detection of small numbers of bacteria in wa-ter. Acta path. microbiol. scand. v. 63, 1965, pp. 597.
239. Drachev S.M., Sibelnikov W.E. L'utilisation de la methode de luminescence pour L'etude du processus d'autodepuration dans un reservoir. XXI International Congress Water Problem. 13-17 may. Tribune de Cebedeau. No 297-298. Belge. 1966.
240. Dienert F. Uber die in den Wassern enthaltenen fluoreszie-rend. Bull.Coo.Chim. de France. v.4, No 5, 1909.
241. Eisenbrand J., Picher I.H., Uber das Auftreten von Ramanstra-hlen bei fluoreszenzuntersuchungen. 2. Electrochem. v. 50, 1944, p. 72.
242. Eisenbrand J. Fluorometrie. Eine Anleitung zur Ausfuhrg. v. quantitativen fluorometrie und spektrofluorometrie Messag. Stuttgart Wissenschaftliche Verl. Ges. 1966.
243. Ewing G.W. Instrumental Methods of Chemical Analysis.Mc. Graw-Hill Book company. New York, 1969.
244. Foote Ch. S. Mechanisms of Photosensitized Oxidation.Scien-ce. v. 162, No 3857, 1968, pp. 963-970.
245. Chassein M., Christman R.F. Properties of the Yellow orga-nic acids of natural waters. Oceanogr. and Limnol. v. 13, No 4, 1968, pp. 583-597.
246. Mc.Glynn, Azumi T., Kinoshita M. Molecular spectroscopy of Triplet state. Prentice-Hall Inc. New Jersey, 1968.
247. Guilbault G.G., Kramer D.H. New direct fluorometric method for measuring dehydrogenase activity. Anal. Chem. v. 63, 1964, pp. 2497.
248. Guilbault G.G., Kramer D.H. A specific fluorometric method for the detection of cyanide. Analyt. Chem. v. 37, 1965, p. 918.

249. Hicks S.E., Carey P.G. Glucose determination in natural waters. *Limnol. and Oceanography*, v. 13, No 2, 1968.
250. Hoadley A.W., Mc.Coy E. Characterisation of certain Gram-negative bacteria from surface waters. *Appl. Microbiol.*, v. 13, 1965.
251. Hoak R.D. Recovery and identification of organics in water. *Internat. J. Air and Water Pollut*, No 6, Nov-Dec., 1962, pp. 521-538.
252. Hoak R.D. Recovery and identification of organics in water. In book "Advances in water Pollution Research", v. I., Pergamon Press. London, 1964, pp. 163-180.
253. Holl P.A.H.M., Kook R.I. A simple device for routine measurements of the oxidation - stability of polymers by means of oxyluminescence. *J. Phys. (J. Scient. Instrum.)* E, 2N.9, 1969, pp. 812-813.
254. Hollifield H.C., Winefordner I.D. Phosphorescopic resolution using a single-disc phosphoriment. *Chem. Instrument.*, v. 1, No 4, 1969.
255. Holm-Hansen O. Determination of microbial biomass in ocean profiles. *Limnol. a. oceanogr.*, v. 14, No 5, 1969, p. 740.
256. Holm-Hansen O., Sutcliffe W.H., Sharp J. Measurement of deoxyribonucleic acid in the ocean and its ecological significance. *Limnol. a. oceanogr.*, v. 13, No 3, 1968.
257. Jacquin F. Contribution a l'etude d'humus naturels par electrophorese sur papier. *Bull. Ecole. nat. super. agron. Nancy*, v. 3, No 2, 1961.
258. Jerlov N.G. Optical classification of ocean water. *Phys. Aspects Light Sea*. Honolulu, Haw., Univ., Haw. Press., 1964, pp. 45-49.
259. Jerlov N.G. Optical oceanography. Elsevier Publishing Co., 1968, p. 194.
260. Jones F.H., Heike G.W. Ultraviolet spectroscopy for pollution monitoring in Great Lakes. 9 th. Conference on Great Lakes Research, Chicago. March, 1966, p. 32.
261. Ingram W.T., Mitwally R. Paths of pollution in New York harbor a model study. *J. Wat. Pollut. Control. Fed.*, v. 38, 1966, pp. 1563-1581.
262. Kalle K. Das Problem der gelösten organischen Substanz, er-
läutert an den Verhältnissen im Meerwasser. *Internationale Vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie.*, v. 14, 1968, s. 72-82, Stuttgart.
263. Kashiwaga M. Activated sludge treatment of textile and dyeing mills waste. *Advances in water pollution Research*. Proceedings of the second International conference held in

- Tokio. August, 1964, v. I, London. Pergamon Press., 1965, pp. 63-84.
264. Ketchum B.H. Phytoplankton nutrients in estuaries. G.H. Lauff (ed) Pub. No 83, AAAS. Washington, D.C., 1967.
 265. Kissane I.M., Robins E. The Fluorometric measurement of deoxyribonucleic acid in animal tissues with special reference to the central nervous system. J. Biol. Chem., v. 233, 1958, pp. 184-188.
 266. Krause H.R., Stegmann M. Über eine kombinierte Methode zur Anreicherung und Isolierung von echt gelösten organischer Phosphorkomponenten aus natürlichem Wasser. Von Buch "Internationale vereinigung für theoretische und angewandte Limnologie", v. 14, 1968, ss. 94-101.
 267. Kubicey J.F.(ed). Immunofluorescencia. Warszawa, 1967.
 268. Leatsch W. Dynamik der Deutschen Acker und Waldböden, Untersuchungen über die Bildung und Anreicherung von Huminstoffen. Beitr. Agrarwiss., v. 3, 1944.
 269. Langebeck W., Ruge U. Einige Versuche mit Lammol. Berichte der deutschen chemischen gesellschaft. v. 70, No 2, 1937, ss. 367-369.
 270. Leach M.S., Migirdicyan E. Fluorescence a longue duree de vie de compoes organiques. In book "Actions chimiques et biologiques et des radiations. M. Haissinsky (ed). Masson et C^{ie} Editeurs. Paris, 1966.
 271. Lerna (de) B. Handbuch der Histochemie. Bd. I. Allgemeine Methodik. v. I, 1958, p. 78.
 272. Lieber M., Martin A.J. Detection of coliform organisms by the fluorescent-antibody method. J. Amer. water works association., v. 57, No 1, 1965, pp. 99-106.
 273. Longwerth I.W. The techniques for measuring fluorescence and phosphorescence of biological materials. Photochemie and photobiol., v.8, No 6, pp. 589-599.
 274. Lawrence H.I. The mechanism of the photochemical production of molecular oxygen from water. Solar Energy, v. 11, No 2, 1967, pp. 123-131.
 275. Mayneord W.V., Anderson W., Evans H.D. and Rees D. Hydrogen peroxide yields in x-irradiated aqueous solution. A sensitive method based on hydroxide Chemiluminescence. Radiation Research, v. 3, No 4, 1955, pp. 379-392.
 276. Medalia A.I. Test for traces of organic matter. Analytical chemistry. v. 23, No 9, 1951, sept., pp. 1318-1320.
 277. Michaelis L, Schnbert M.P. Chem. Rev., v. 22, 1938, p.239.
 278. Myrick E.M., Ryckman de V.W. Considerations in the isolation and measurement of organic refractories in water. J.Amer.

Water Works Assoc., v. 55, No 6, 1963, pp. 783-796.

279. Moens N.L.W.I. The influence of light on destruction of phenol in water. *Hydrobiologia*, v. 24, 1964, pp. 540-555.
280. Munro A.L.S., Brock T.D. Distinction between bacterial and algal utilisation of soluble substances in the sea. I. *Gen. Microbiol.*, v. 51, No 1, 1968, pp. 35-42.
281. Mulder E.G. Recent investigations the field of water microbiology. "Water", v.48, 1964, pp. 120-124.
282. Murthy C.R. Large-scale diffusion studies at Niagara river mouth lake Ontario. In book "Proceedings twelfth conference on Great Lakes research. Ann. Arbor. Michigan, 1969.
283. Ness S., Hercules D.M. An image Intensifier spectrograph. *Anal.Chem.*, No T-9, 91422, 1969, pp. 1467.
284. Nestoresco N., Popesco A., Georgesco G. Identification of enteropathogenic *Escherichia coli* by immunofluorescence. I. Methods of rapid identification in experimentally infected faeces. *Archivum. Path.exp.Microbiol.* v. 23, 1964, pp.997-1004.
285. Ogura N. Ultraviolet-absorbing materials in natural water. *J.Chem.Soc. Japan. Pure.Chem.Sect.*, v. 86, 1965, pp. 1282 - 1288.
286. Glaniacz W.S., Pisano M.A., Rosenfeld M.H., Elgart R.L. Chemiluminescent method for detection microorganisms in water. *Envir. Sci. Technol.*, v. 2, 1966.
287. Parker C.A. Advances in photochemistry, v. 2. Interscience, New York, 1964, pp. 305.
288. Parker C.A. Photochemiluminescence of solutions with applications to photochemistry and analytical chemistry. Elsevier Amsterdam. London - New York, 1968.
289. Pauli F.W. Soil Fertility. A Biodynamical Approach. Hilger & Watts LTD. 1967.
290. Perschke H., Broda E. Determination of very small amounts of hydrogen peroxide. *Nature*, v. 190, No 4774, 1961.
291. Pesez M., Poirier P. Methodes et reactions de l'analyse organiques. Part. 3. Masson & Cie. Paris, 1954.
292. Potos Chris. A study of taste and odor in the municipal water supply at Cleveland, Ohio. In "Proceedings eleventh conference on Great Lake Research." International Assoc. for Great Lake research. Ann. Arbor Michigan, 1968.
293. Radley I.A., Grant I. Fluorescence analysis in ultraviolet light. IV ed. London, 1954.
294. Roberts I.D., Caserio M.C. Basic principles of organic chemistry. New York. Amsterdam, 1965.

295. Roth M. Phosphorescence a temperature ordinaire: un moyen selectif et non destructif pour la detection de certains composés aromatiques en chromatographie sur papier et sur couche de cellulose. *J. of Chromatography.*, v. 30, No 1, sept., 1967, pp. 276-278.
296. Scheminsky. Technik, Wert und Grenzen der Fluoreszenzanalyse mit gefiltertem ultravioletten Licht in der Balneologie. *Fundamenta Balneobioklimatologia*, v. I, No 1, ss. 3-20.
297. Sieburth I., Mc.W., Jencen A. Studies on algal substances in the sea 2. The formation of gelbstoff (humic material) by exudates of *Phaeophyta*. *J. of experimental marine biology and ecology*. v.3, No 3, 1969, pp. 275-280.
298. Snell F., Hilton C. *Encyclopedia of industrial chemical analysis*. v.2, John Wiley & sons LTD, 1966.
299. Spain D., Drown D.B., Yankr J.M. The use of concentrations of electrolytes and naturally fluorescent materials to study water mass movements in a freshwater "Estuary". *Proceedings twelfth conference on Great Lakes research. International association for Great Lakes research. Ann. Arbor. Michigan, 1969.*
300. Steigman A. Luminol as reagent for hydrogen peroxide, copper, iron and cyanide. *Society of Chemical Industry. February, No 2*, v. 61, 1942, pp. 36.
301. Stephens K. Continuous measurement of turbidity. *Deep Sea Res.* v. 14, 1967, pp. 465-467.
301. Stephens E.R. Reactions of oxygen atoms and ozone in air pollution. *Air and Water Pollut. Int. J.*, v. 10, No 10, pp. 649-662.
302. Strickland J.D.H., Parsons T.R. *A Practical Handbook of Sea-Water Analysis*. Fisheries Research Board of Canada. Ottawa, 1968.
303. Swain F.M., Paulsen G.W., Ting F. Chlorinoid a. Flavonoid pigments from aquatic plants and associated lake and bay sediments. *J. of Sedimentary Petrology* v. 34, No 3, 1964.
304. Suess M.J. Polynuclear aromatic hydrocarbons-their presence in the water environment and their health aspects. *World health organisation (W.H.O. W. Poll)*, 1968.
305. Vaccaro R.F., Hicks S.E., Jannasch H.W., Carey Fr.G. The occurrence and role of glucose in sea water. *Limnology & Oceanogr.* v. 13, No 2, 1968, p. 356-360.
306. Wagner P.J., Hammond G.S. Properties and reactions of organic molecules in their triplet states. *Advances Photochemistry*, v. 5, Interscience. New York, London, Sydney, 1968.
307. Weber G. Enumeration of components in complex systems by fluorescence spectrophotometry. *Nature (Engl.)*, No 4770, 1967, pp. 27-29.

309. Waldichuk M. Eutrophication studies in a shallow inlet on Vancouver Island. J. Water Pollut. Control Federation. May, part. I, 1959, pp. 745-764.
310. Wehry E.L., Rogers L.B. Fluorescence and phosphorescence of organic molecules. In book "Fluorescence and phosphorescence analysis", New York, London, 1966.
311. Westh. Fluorescence and phosphorescence in chemical applications of spectroscopy. Interscience. New York, 1965.
312. Winefordner J.D., McCarthy, W.J., John P.A. St. Phosphorimetry as an analytical approach in biochemistry. In book "Methods of biochemical analysis", v. 15, Interscience Publishing, 1967.
-

В в е д е н и е	3
Г л а в а I. ИЗЛУЧЕНИЕ СВЕТА МОЛЕКУЛАМИ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ.	4
Классификация явлений люминесценции и виды свечения природных вод	6
Строение люминесцирующих молекул	10
Г л а в а II. ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРОВ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ. . . .	17
Приборы для спектрального люминесцентного анализа.	19
Некоторые практические рекомендации по подготовке к спектральным люминесцентным исследованиям.	27
Определения концентрации отдельных соединений, находящихся в смеси	31
Регистрация спектров фосфоресценции.	36
Измерение флуоресценции в ультрафиолетовой области спектра.	37
Методы измерения хемилюминесценции и сверхслабой биохемилюминесценции в эксперименте с природной водной средой.	39
Г л а в а III. ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА ПРИРОДНЫХ ВОД И АНАЛИЗ ОТДЕЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ.	48
Флуоресцирующие вещества природной водной среды.	49
Люминесценция дисперсной фазы.	52
Люминесценция, связанная с водными организмами и их жизнедеятельностью	55
Люминесцентные свойства органического вещества почвы	58
Люминесценция природных вод различных географических районов.	64
Оптическая характеристика вод озёр Неро и Плещеево	65
Флуоресценция воды как показатель водных масс пресных водоемов и моря	69
Люминесцентный метод определения отдельных соединений	72
Г л а в а IV. ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД В ИССЛЕДОВАНИЯХ ЗАГРЯЗНЕННЫХ ВОДОЕМОВ.	85
Изменения люминесцентных свойств вод, возникающих в результате их загрязнения	92

Тушение люминесценции природной вод как	
показатель их загрязнения.	96
Люминесцентные свойства вод Москвы-реки	98
Определение отдельных соединений, поступа-	
ющих в водоем со сточными водами	104
Глава V. ХЕМИЛУМИНЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД ИЗУЧЕНИЯ ОКИСЛЕ-	
НИЙ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ	
Свободные радикалы - активные частицы. . .	120
Хемилюминесценция и ее использование для	
изучения механизма экзотермических реакций	121
Перенос водорода в природной воде	130
О возможности протекания в водной среде	
реакции окисления по цепному типу.	136
Л и т е р а т у р а	148

В. В. Сивильников

ИЗМЕНЧИВЫЕ АВАРИИ ВОД СУШИ И МОРЕ

Редактор А. В. Егустова

Корректор А. И. Анисова

Подписано к печати 3/УБ-71г.

Формат 84х106/16

Лист. л. 10,5 ТБ 02429

Тираж 600 экз. Заказ № 618

Листа 80 коп.

**Удостоверено для печати
Основного отделения Гидрометцентра СССР**

г. Омск