

## СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ПРИРОДНЫХ ВОД

*А. П. Головач*

Одной из важнейших проблем современной гидрохимии является изучение органического вещества природных вод. Именно органическое вещество, растворенное и взвешенное, живое и косное, определяет в основном ту разницу, которая существует между природной водой и раствором тех же солей и газов в дистиллированной воде.

Оптические методы исследования водных сред являются наиболее простыми и экспрессными. Современная оптика располагает достаточно большим арсеналом спектроскопических методов, позволяющих идентифицировать различные химические соединения. Среди спектрометрических методов определения органических веществ природных вод особое место занимают методы с использованием спектров поглощения, рассеяния и флуоресценции. В отличие от других спектральных методов (ИК-спектроскопии, ЯМР, рентгено-электронной спектроскопии, ЭПР и др.) их применение не всегда сопряжено с предварительным извлечением органических веществ из природных вод. Рассмотрим принципы и возможности применения спектрофотометрии, флуориметрии и спектроскопии комбинационного рассеяния для определения гумусовых веществ (ГВ) природных вод.

Спектрофотометрия (спектроскопия в видимой и ультрафиолетовой областях спектра) основана на измерении интенсивности поглощения того или иного соединения. Органические вещества определяют по собственной окраске или по поглощению света продуктами их аналитических реакций. Электронные спектры, как правило, не являются характеристичными, и часто полосы поглощения соединений разных классов лежат в одной области. При анализе объекта, содержащего только одно соединение, или при определении вещества, обладающего весьма отличительными от других характеристиками, спектрофотометрия очень удобна вследствие ее простоты и высокой чувствительности (предел обнаружения спектрофотометрических методов —  $2 \cdot 10^{-4}$ — $1 \cdot 10^{-3}$  г/л) [5]. Однако при исследовании смесей веществ нехарактеристичность электронных спектров осложняет применение метода. Очевидно, что эти трудности гораздо выше при определении веществ по их собственной окраске. Таким образом, имея в качестве объекта исследования растворенные органические вещества природных вод, можно говорить лишь об оценочной характеристике состава анализируемого образца.

Для спектров поглощения природных вод в видимой и ультрафиолетовой областях (200—800 нм) характерны широкие полосы поглощения. Характер спектров поглощения основных классов органических веществ природных поверхностных вод в целом аналогичен характеру спектра поглощения исходной пробы воды: монотонное повышение оптической плотности к ультрафиолетовой части спектра. Интенсивность и положение максимума спектра поглощения органических соединений зависит от содержания полициклических компонентов, содержания метильных групп, разветвления алкильной цепочки, а также наличия сильнопоглощающих групп, или хромофоров, ( $C=O$ ,  $-N=O$ ,  $-S$ ,  $-N=N$  и т. д.) [6]. Поскольку растворенное органическое вещество природных вод представляет собой смесь ГВ, углеводов, углеводов, органических кислот, протеинов и т. д. общий спектр поглощения складывается в результате наложения спектров всех составляющих компонентов и не имеет ярковыраженных полос поглощения.

Спектрофотометрическое измерение интенсивности окраски растворов используется при изучении ГВ в качестве приема конечного определения после их выделения из природных растворов и самостоятельно. Содержание ГВ оценивают в единицах массы и единицах органического углерода гумусовых кислот и их фракций по формулам или калибровочным кривым.

Используя то, что оптическая плотность растворов фульвокислот (ФК) резко возрастает с 400 нм в сторону уменьшения длины волны, для изучения гумусовых соединений, выделенных из проб воды Припяти, бы-

ли выбраны длины волн 450 и 350 нм. Содержание фульвокислот составило 7,2 — 10,2 мг/л, а гуминовых кислот (ГК) — 0,05—0,3 мг/л [3]. Концентрации рассчитывались по формуле:

$$C_{\text{ФК(ГК)}} = K_{\text{ФК(ГК)}}(E_{350} - E_{450}),$$

где  $C_{\text{ФК(ГК)}}$  — содержание ФК (ГК), мкг углерода кислот;

$K_{\text{ФК(ГК)}}$  — коэффициенты, определяемые на тестовых растворах с известным содержанием ГК (ФК);

$E_{350}$  и  $E_{450}$  — оптическая плотность раствора, измеренная соответственно при 350 и 450 нм.

По чувствительности и селективности лучшим, чем спектрофотометрический метод, является флуориметрический. У молекул, поглотивших фотон света, электрон переходит на более высокий энергетический уровень. Одним из процессов, посредством которого возбужденная молекула возвращается в более стабильное состояние, является эмиссия фотона. Если этот процесс протекает очень быстро ( $10^{-8}$ — $10^{-7}$  с), он называется флуоресценцией. Сложные органические молекулы обычно излучают свет большей длины (более низкой энергии), чем у света, вызвавшего возбуждение молекулы. Интенсивность излучения также зависит от концентрации соединения и поэтому может быть использована как основа аналитических измерений. Селективность флуоресцентного метода по сравнению с методом абсорбционной спектроскопии выше, так как учитываются уже две переменные — длина волны возбуждающего и длина волны флуоресцентного излучений.

Флуоресценция в видимой и ультрафиолетовой областях спектра относится к одной из постоянных характеристик вод суши. Она связана с составом и концентрацией органических соединений в пробе воды [4]. В зависимости от происхождения органических веществ, способных флуоресцировать, их можно разделить на природные вещества и соединения промышленного синтеза. В число первых входят ГВ, а также прижизненные и посмертные выделения организмов: летучие органические вещества, пигменты, битумоиды и др. Вторая группа соединений включает оптические отбеливатели, фенолы, ароматические углеводороды, некоторые красители, синтетические поверхностно-активные вещества и др. Таким образом, флуоресценция поверхностных вод обусловлена сложным набором соединений, в котором ведущее место занимают гумусовые вещества. Пигменты (хлорофилл, каротиноиды) составляют в речных водах 0,01—0,05%, сумма хлороформрастворимых веществ — 1—10%, сумма летучих органических веществ — 2—18% общего содержания органического вещества. При концентрации ГВ  $25,0 \pm 10$  мг/л они полностью или преимущественно экранируют флуоресценцию других соединений, каждое из которых находится в концентрации 0,1—0,01 мг/л [1]. Интенсивность флуоресценции гумусовых веществ и люминогенов промышленного синтеза различаются в 60—300 раз.

Флуоресценция ГВ природных вод возбуждается в видимой и УФ областях спектра, причем форма спектра возбуждения ГВ подобна форме спектра поглощения. Положение спектра свечения на шкале длин волн зависит от длины волны возбуждающего излучения. Этот спектр представляет собой ассиметричную полосу с полушириной 120—140 нм, максимум которой смещен относительно линии возбуждения в длинноволновую область на 80—100 нм.

Суммарное количество гумусовых кислот определяют по интегральной люминесценции в области длин волн 300—560 нм или по пиковой интенсивности спектра люминесценции на определенной длине волны на флуориметрах любого типа с помощью калибровочного графика, представляющего зависимость интенсивности люминесценции от количества растворенных органических веществ, выраженного в единицах органического углерода или ХПК, в 1 л пробы [6].

Флуоресцентные свойства фракций ГВ при возбуждении их излучением в диапазоне длин волн 260—500 нм и регистрации в диапазоне длин волн 400—600 нм дают возможность определять эти кислоты дифференцированно в двухкомпонентном растворе [2]. При наблюдении на волне  $\lambda_{\text{н}} = 470$  нм максимум на спектре возбуждения флуоресценции ФК наблюдали на волнах 340—350 нм, а гуминовых при  $\lambda_{\text{н}} = 550$  нм — на волнах 460—470 нм. Поэтому при возбуждении на  $\lambda_{\text{возб}} = 350$  нм флуоресценция ФК максимальна при  $\lambda_{\text{рег}} = 470$  нм, а гуминовых — при  $\lambda_{\text{рег}} = 500$  нм, причем их интенсивность намного ниже, чем ФК. При возбуждении на  $\lambda_{\text{возб}} = 470$  нм интенсивность флуоресценции ГК в 4—5 раз больше, чем ФК. Таким образом, в природном двухкомпонентном растворе по значениям интенсивности люминесценции, зарегистрированных на волнах  $\lambda_{\text{рег}} = 470$  нм при возбуждении на  $\lambda_{\text{возб}} = 350$  нм и  $\lambda_{\text{рег}} = 520$  нм при возбуждении на волне  $\lambda_{\text{возб}} = 470$  нм, возможно определение концентраций ФК и ГК соответственно. Искомые концентрации рассчитываются методом итераций из системы уравнений:

$$\begin{cases} C_{\text{ГК}} = K_1 (I_{470}^{350} - K_2 I_{540}^{470}) \\ C_{\text{ФК}} = K_3 (I_{470}^{350} - K_4 I_{540}^{470}) \end{cases}$$

где  $C_{\text{ГК}}$ ,  $C_{\text{ФК}}$  — концентрации ФК и ГК соответственно, мг/л;

$I_{470}^{350}$ ,  $I_{540}^{470}$  — значения интенсивностей люминесценции при возбуждении на длинах волн  $\lambda_{\text{возб}} = 470$  нм и  $\lambda_{\text{рег}} = 540$  нм и регистрации на длинах волн  $\lambda_{\text{возб}} = 350$  нм и  $\lambda_{\text{рег}} = 470$  нм соответственно;

$K_1$ ,  $K_2$ ,  $K_3$ ,  $K_4$  — коэффициенты, определяемые на тестовых растворах с известным содержанием ГК и ФК.

С применением лазеров в качестве источников излучения, возбуждающих флуоресценцию, возможности флуориметрии природных вод значительно расширились: возникли дистанционная и нелинейная флуориметрия [5]. Флуориметрия была поставлена на строгую количественную основу благодаря применению метода внутреннего репера — калиб-

ровке сигнала флуоресценции примеси по сигналу комбинационного рассеяния (КР). Для калибровки флуориметров можно использовать какой-либо сигнал сравнения, исходящий из среды, определяемый тем же световым полем в среде, что и полезный сигнал, и мало зависящий от состояния среды. При лазерном зондировании атмосферы в качестве такого сигнала сравнения часто используется стоксова компонента комбинационного рассеяния сигнала в азоте, концентрация которого в воздухе велика и постоянна. При количественном спектральном анализе водных сред в качестве сигнала сравнения можно использовать стоксову компоненту комбинационного рассеяния в воде [4]. КР-спектроскопия не является высокочувствительным методом при непосредственном определении органических веществ в воде (предел обнаружения  $10^{-1}$ — $10^{-3}$  г/л). Для наиболее интенсивной рамановской линии воды дифференциальное сечение КР, проинтегрированное по регистрируемой спектральной линии КР, асимптотически равно  $10^{-29}$  см<sup>2</sup>/ср, в то время как произведение сечения поглощения органических соединений на квантовый выход флуоресценции имеет типичные значения  $10^{-16}$ — $10^{-18}$  см<sup>2</sup>/ср. В то же время интенсивность флуоресценции органических соединений сравнима с интенсивностью КР самой воды как растворителя, что позволяет использовать полосу КР воды в качестве внутреннего репера. В качестве аналитического сигнала используется отношение  $I_{\text{ФЛ}}/I_{\text{КР}}$ , где  $I_{\text{ФЛ}}$  — интенсивность (в максимуме полосы) флуоресценции органических веществ;  $I_{\text{КР}}$  — интенсивность линии КР воды при длине волны, соответствующей валентным колебаниям О – Н – О в жидкой фазе. Значение  $I_{\text{ФЛ}}$  измеряется относительно уровня шума; значение  $I_{\text{КР}}$  получают путем вычитания сигнала флуоресценции из общего сигнала при длине волны КР воды.

При разработке флуоресцентных количественных методов определения весьма важен вопрос о тушении флуоресценции, то есть отсутствием прямой зависимости между концентрацией вещества и интенсивностью свечения люминогена. Могут иметь место концентрационное тушение, тушение органическими и неорганическими примесями [1, 6]. Тушение может быть обнаружено путем сопоставления интенсивности флуоресценции на 1 градус цветности или на мг кислорода бихроматной окисляемости. Влияние ионов металлов и органических веществ на флуоресценцию ГВ позволяет изучать взаимодействие этих веществ флуоресцентными методами. Экспериментально [4, 9] установлен конформационный механизм тушения флуоресценции красителя Р6Ж гумусовыми веществами. Установлено, что флуоресцентные свойства красителя родамин 6Ж позволяют использовать его в качестве флуоресцентного зонда растворенных в природных водах гумусовых соединений. Изменения параметров флуоресценции зонда при взаимодействии с молекулами ГВ характеризуются константами связывания и количеством центров связывания, выражающих суммарную концентрацию активных центров в составе ГВ и их способность связывать как ионы тяжелых металлов, так и органические загрязняющие вещества.

Таким образом, наиболее перспективным методом при изучении растворенных органических веществ природных вод является метод люминесцентной спектроскопии, который сочетает в себе высокую чувствительность, избирательность, экспрессность и информативность (позволяет определять количество ГК и ФК, количество комплексообразующих групп в их молекулах, электростатические свойства этих молекул, константы равновесия реакций ГВ с ионами металлов и другими лигандами).

#### Список источников:

1. Головач, А. П. Исследование комплексообразующей способности природных вод бассейна реки Припять методом флуоресцентных зондов. / А. П. Головач // Природнае асяроддзе Палесся: асаблівасці і перспектывы развіцця: матэрыялы міжнар. навук. канф. — Брэст, 16-18 чэрв. 2004 г. — Ч. 2. — с. 488 — 493.
2. Кондратьев, К. Я. Дистанционный метод определения концентраций растворенных органических веществ в водных экосистемах / К. Я. Кондратьев, А. А. Гительсон, Г. А. Дубовицкий // Докл. АН СССР. — 1987. — Т. 295, № 3. — С. 569—571.
3. Лиштван, И. И. Растворенное органическое вещество торфяно-болотных вод / И. И. Лиштван, В. М. Крайко, А. П. Головач // XV Менделеевский съезд по общ. и приклад. химии. Тез. докл. — Минск, 1993. — Т. 2. — С. 228—229.
4. Ахманова, М. В. Определение растворенных органических соединений в природных водах методом лазерно-индуцированной флуоресценции / М. В. Ахманова, В. С. Карпов, Н. С. Сафронова и др. // Геохим. — 1990, № 7. — С. 1000—1010.
5. Сэм, М. Ф. Лазеры и их применения / М. Ф. Сэм // Соросовский образовательный журнал, 1996. — № 6. С. 92—98.
6. Golovatch, A.P. Laser spectrofluorimetry of humic substances conformational transformation in water / Golovatch A.P., Nemkovich N.A., Kozlovski A.S., Lishtvan I.I., Rubinov A.N. // Proceed. of SPIE. — 1995. — Vol. 2503. — P.1254—1259.