

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК

**Физический
ИНСТИТУТ**



*имени
П.Н.Лебедева*

Ф И А Н

ПРЕПРИНТ

2

В.С. ГОРЕЛИК, А.А. ЕСАКОВ, Л.И. ЗЛОБИНА,
А.Н. МОРОЗОВ, П.П. СВЕРБИЛЬ

**МОЛЕКУЛЯРНЫЙ АНАЛИЗ ВОДНЫХ СРЕД
ПРИ СВЕТОДИОДНОМ И ЛАЗЕРНОМ
ВОЗБУЖДЕНИИ**

МОСКВА 2008

Аннотация

Развита методика обнаружения следов посторонних компонентов в воде, а также анализа микроструктуры воды, основанная на изучении характеристик вторичного излучения, возбуждаемого ультрафиолетовыми полупроводниковыми светодиодами и лазерными источниками. Разработана методика дистанционного анализа состава водных сред, основанная на использовании многожильного волоконно-оптического зонда. Создан новый тип кювет для исследования вторичного излучения в молекулярных средах – капиллярные кюветы. Использование кювет этого типа позволяет проводить исследования водных растворов с малыми концентрациями компонентов. Показано, что в капиллярных кюветах возможно распознавание типа молекулярного соединения, присутствующего в водной среде, по его спектру фотолюминесценции.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 06-02-81024-Бел_а, 07-02-00106 и 07-02-12027).

Физический институт им. П.Н. Лебедева Российской академии наук.

Москва 119991, Ленинский проспект, 53

Телефон: (499)1352350, факс: (499)1357880, E-mail:
gorelik@sci.lebedev.ru

1. Введение.

Присутствие токсических компонентов и микроорганизмов в воде является основополагающим фактором при оценке ее качества и возможности использования. Токсическими компонентами, присутствующими в воде, могут быть ароматические соединения: фенол, бензол, антрацен, флуорен, бензпирен, диоксины и другие вещества, в молекулярной структуре которых имеются ароматические кольца или гетероциклы. Кроме того, в воде могут присутствовать тяжелые металлы и их соединения, тяжелая вода (D_2O), цианиды и т. д.

Наличие в воде опасных для жизни микроорганизмов также является важным фактором при оценке ее качества. Известные к настоящему времени способы оценки присутствия в воде токсических компонентов и микроорганизмов являются весьма дорогостоящими и труднореализуемыми, особенно при анализе следовых количеств посторонних веществ.

Качество воды определяется также ее микроструктурой, зависящей от технологии ее приготовления и обработки.

В данной работе сообщается о развитии в последнее время [1] методе обнаружения следов посторонних компонентов в воде, а также о средствах анализа микроструктуры воды, основанных на изучении характеристик вторичного излучения, возбуждаемого ультрафиолетовыми полупроводниковыми светодиодами и лазерными источниками.

Основными физическими явлениями, наблюдаемыми при анализе вторичного излучения, возбуждаемого в химических соединениях источниками видимого и ультрафиолетового излучения, являются комбинационное рассеяние (КР) и фотолюминесценция (ФЛ).

В элементарном процессе КР происходит неупругое взаимодействие, в результате которого энергия фотонов рассеянного света отличается от энергии падающих на вещество фотонов возбуждающего излучения на величину энергии колебательных квантов вещества. Таким образом, спектры комбинационного рассеяния являются характеристическими для

каждого вещества и позволяют получать информацию о микроструктуре материальной среды.

В первых экспериментах по КР в качестве источника возбуждающего излучения использовался прошедший через фильтры солнечный свет. Наблюдение рассеянного излучения проводилось визуально с использованием светофильтров для выделения нужного спектрального диапазона. В дальнейших экспериментах для возбуждения спектров рассеяния применялись ртутные лампы, а регистрация таких спектров производилась фотографическим способом. Принципиальное изменение ситуации с источниками излучения произошло с изобретением лазеров в 1960 году. Из-за высокой степени монохроматичности излучения такие источники света имеют существенные преимущества для возбуждения спектров КР по сравнению с источниками спонтанного излучения [2].

Спектроскопия КР света в настоящее время широко используется для исследований колебательных спектров молекул и кристаллов [3]. Одной из главных проблем спектроскопии КР является малая интенсивность такого рассеяния в сочетании со значительной интенсивностью рассеяния на частоте возбуждающего излучения. Это затрудняет получение спектров КР, особенно в области частот вблизи возбуждающей линии. Эффективность КР существенно возрастает при использовании ультрафиолетовых источников возбуждающего излучения.

Фотолюминесценцию обычно связывают с поглощением падающего светового кванта и последующим излучением другого светового кванта, соответствующего оптическому переходу между реальными электронными уровнями системы.

Ранее для исследования вторичного излучения в молекулярных средах использовались различные виды кювет: кварцевые прямоугольные кюветы, металлические цилиндрические кюветы и др. При этом длина рассеивающего вещества составляет ~ 1 см. Это затрудняет регистрацию вторичного излучения в тех случаях, когда эффективное сечение соответствующего процесса невелико, например при исследованиях комбинационного рассеяния света, эффективное сечение которого $\sim 10^{-28} \text{ см}^2$.

В лаборатории «Комбинационное рассеяние» ФИАН был разработан и создан новый тип кювет для исследования вторичного излучения в молекулярных средах – капиллярные кюветы. Использование кювет этого типа позволяет проводить исследования растворов веществ с малыми концентрациями.

Цель данной работы состояла в создании эффективного анализатора микроструктуры и примесей водных сред на основе ультрафиолетового возбуждения вторичного излучения в водных средах.

2. Экспериментальная техника.

Сущность предлагаемого метода основана на анализе спектров вторичного излучения, возникающего в воде при ее облучении ультрафиолетовым непрерывным или импульсно-периодическим излучением. Для решения поставленной задачи нами были использованы разработанные в последние годы ультрафиолетовые полупроводниковые светодиоды с волоконнооптическим выходом [4,5] и лазер на парах меди, характеризующийся сравнительно высоким коэффициентом полезного действия [2].

На рис.1 приведена общая схема регистрации вторичного излучения молекулярных соединений в водных средах, помещённых в капиллярные кюветы, в геометрии «на просвет». В качестве источника возбуждающего излучения использовался один из пяти светодиодов (1), генерирующих излучение в видимой области спектра с длинами волн $\lambda = 365, 382, 463, 527, 670$ нм. Кроме того, использовался «белый светодиод».

Возбуждающее излучение светодиодов (1) с помощью световода (2) направлялось внутрь капиллярной кюветы с образцом (3). Вторичное излучение выходило из кюветы в другой световод, направляющий его к входной щели миниспектрометра FSD8 (4). С миниспектрометра цифровая информация о спектре вторичного излучения посредством USB кабеля (5) передавалась на компьютер (6).

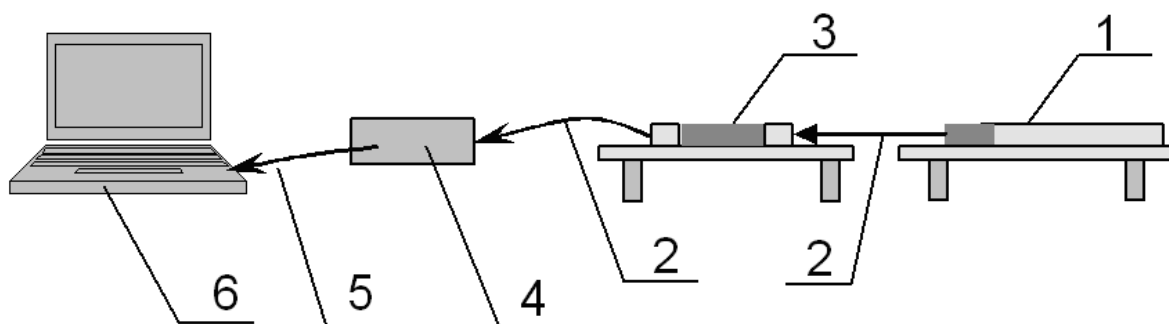


Рис. 1. Блок-схема экспериментальной установки:

1 – светодиоды, излучающие в ультрафиолетовой и синей области спектра, с различными длинами волн; 2 – световоды; 3 – капиллярная кювета; 4 – миниспектрометр FSD8; 5 – USB кабель; 6 – компьютер.

На рис.2 приведена схема регистрации вторичного излучения молекулярных соединений в водных средах, помещённых в капиллярные кюветы, в геометрии «на отражение». При этом использовался многожильный волоконно-оптический зонд (позиция 3 на рис.2).

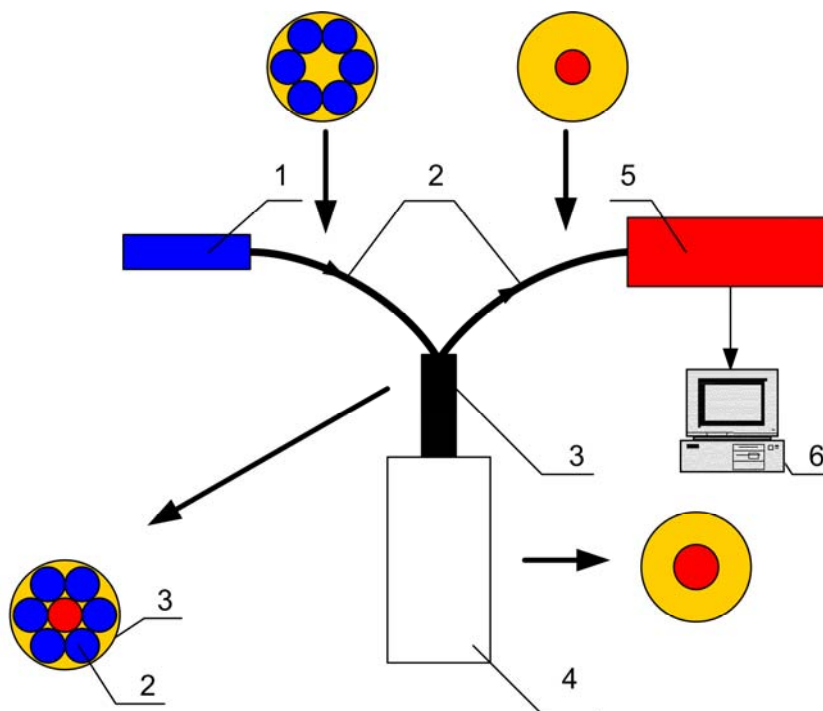


Рис. 2. Схема регистрации вторичного излучения в геометрии 180-градусного рассеяния с использованием Y-световода и зонда при светодиодном возбуждении:

1 – светодиод; 2 – световоды; 3- зонд, 4 – капиллярная кювета; 5 – миниспектрометр FSD8; 6 – компьютер.

Такой зонд состоит из центрального световода, по которому передается собранное от образца вторичное излучение, и периферийных световодов, по которым возбуждающее излучение направляется к образцу.

На рис.3 приведена схема регистрации вторичного излучения молекулярных соединений, находящихся на расстоянии 1 – 5 м, в геометрии «на отражение». При этом был использован многожильный волоконно-оптический зонд (позиция 2 на рис.3), аналогичный приведенному на рис. 2.

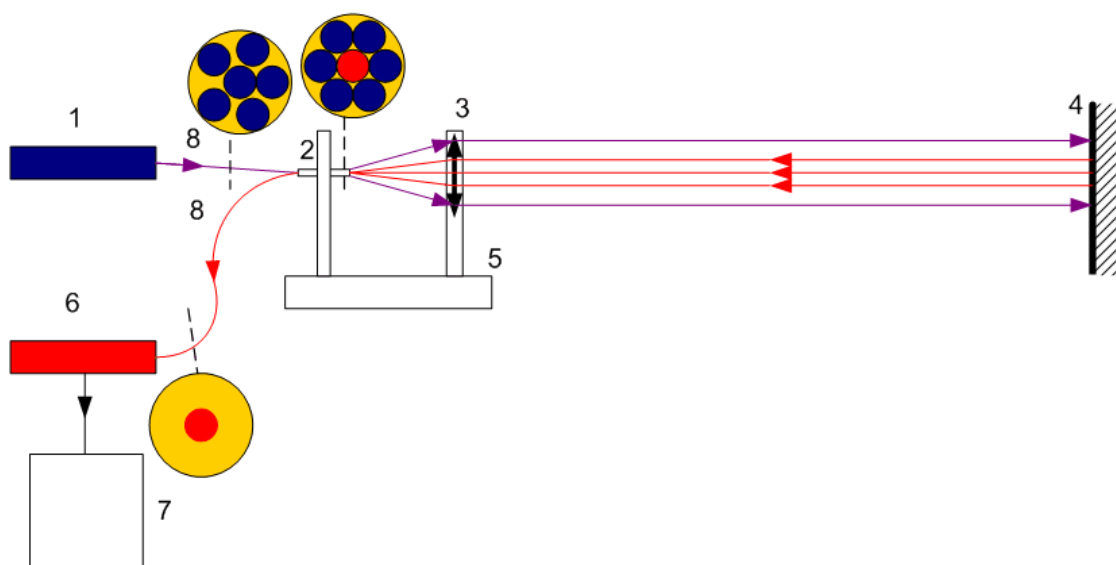


Рис. 3. Схема дистанционной регистрации вторичного излучения молекулярных сред в геометрии 180-градусного рассеяния с использованием Y-световода при светодиодном возбуждении: 1 – светодиод; 2 – световод; 3 – линза; 4 – удаленный образец; 5 –держатель; 6 –миниспектрометр FSD8; 7 – компьютер; 8 – световоды.

Рассмотрим подробнее конструкцию и принцип работы составных частей используемой экспериментальной установки.

Первый светодиод, который можно было применять на практике, был разработан в 1962 г. и сделан из составного сплава полупроводников фосфида арсенида галлия, который испускал красный свет. Последние разработки светодиодов ведутся на основе AlInGaP (красный диапазон) и AlInGaN (синий и зеленый диапазоны) материалов.

В начале 1990-х компания LumiLeds Lighting (ранее Hewlett-Packard Optoelectronics Division) изготовила комплекс OMVPE процессов роста соединения алюминия индия галлия фосфида (AlInGaP) на подложках GaAs. Система AlInGaP позволяет создавать светодиоды высокой яркости от желтого до красного диапазона спектра. Светодиоды на основе AlInGaP имеют внутренний квантовый выход, приближающийся к 100 %, т.е. почти каждое взаимодействие электрона и дырки заканчивается испусканием фотона.

AlInGaN-система имеет более широкую запрещенную зону, чем AlInGaP, т.е. может излучать в ультрафиолетовом диапазоне и характеризуется большей мощностью излучения [6,7].

Устройство светодиода изображено на рис. 4.

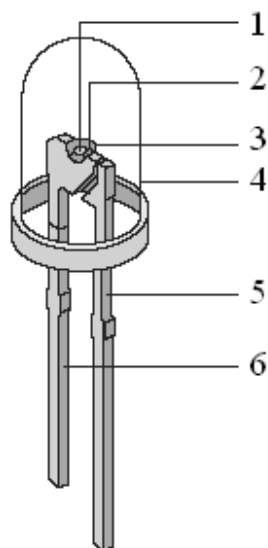


Рис. 4. Устройство светодиода: 1-полупроводниковый диод, 2-соединительный провод, 3- вогнутый отражатель, 4- пластмассовая линза, 5- анод, 6- катод.

Ниже на рис. 5,6 приведены характерные линии спектров всех 6 используемых в нашей экспериментальной установке полупроводниковых светодиодов.

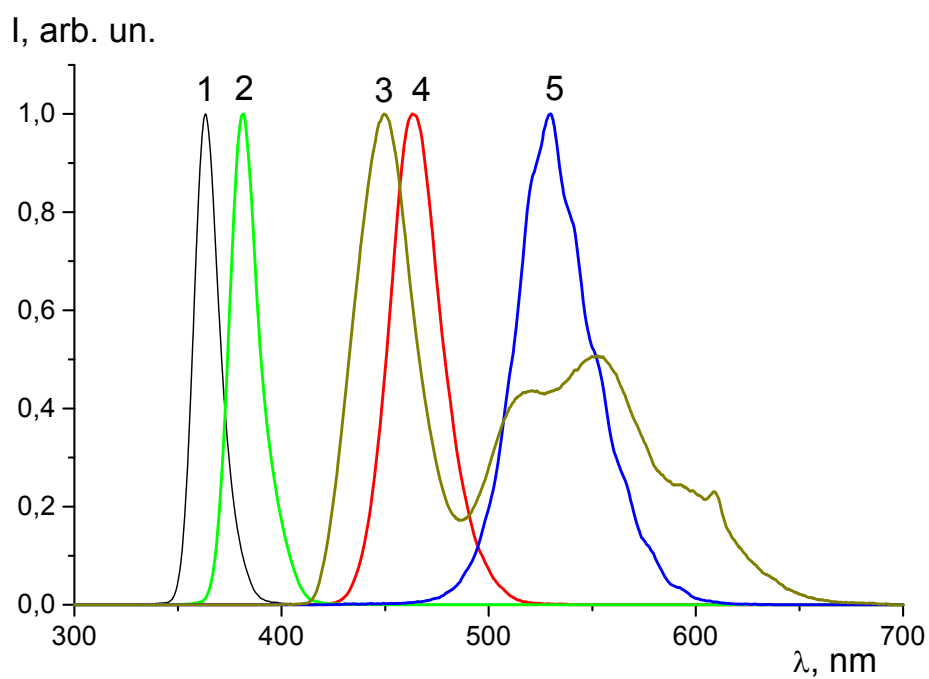


Рис. 5. Спектры излучения светодиодов, использовавшихся в исследованиях, с длинами волн: 1 – 365 нм, 2 – 382 нм, 3 – “белого светодиода”, 4 – 463 нм, 5 – 527 нм.

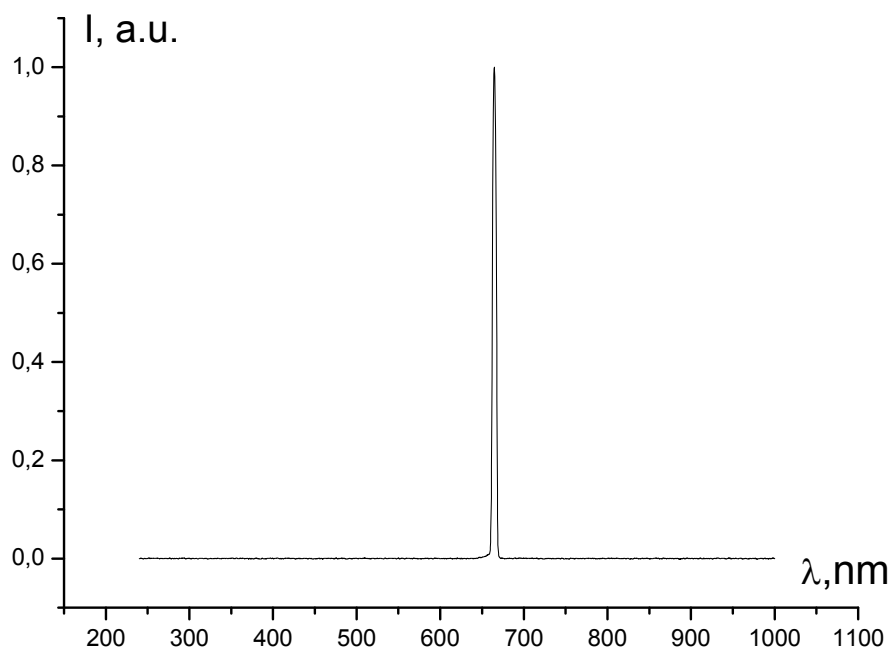


Рис.6. Спектр излучения полупроводникового лазерного диода с длиной волны 670нм.

2.1. Устройство капиллярных кювет и кюветный блок.

Кюветный блок представлял собой тефлоновый лист, на котором помещалось большое число фотонных ловушек, т.е. кювет, в которых свет претерпевает многократное отражение и рассеяние. На рис. 7 представлен внешний вид кюветного блока с присоединенным к нему миниспектрометром (слева).

Методика возбуждения вторичного излучения, разработанная нами, основана на использовании кварцевого световода для ввода возбуждающего лазерного излучения в рассеивающую среду, помещаемую в кювету, и дополнительных световодов для вывода вторичного излучения из этой кюветы.

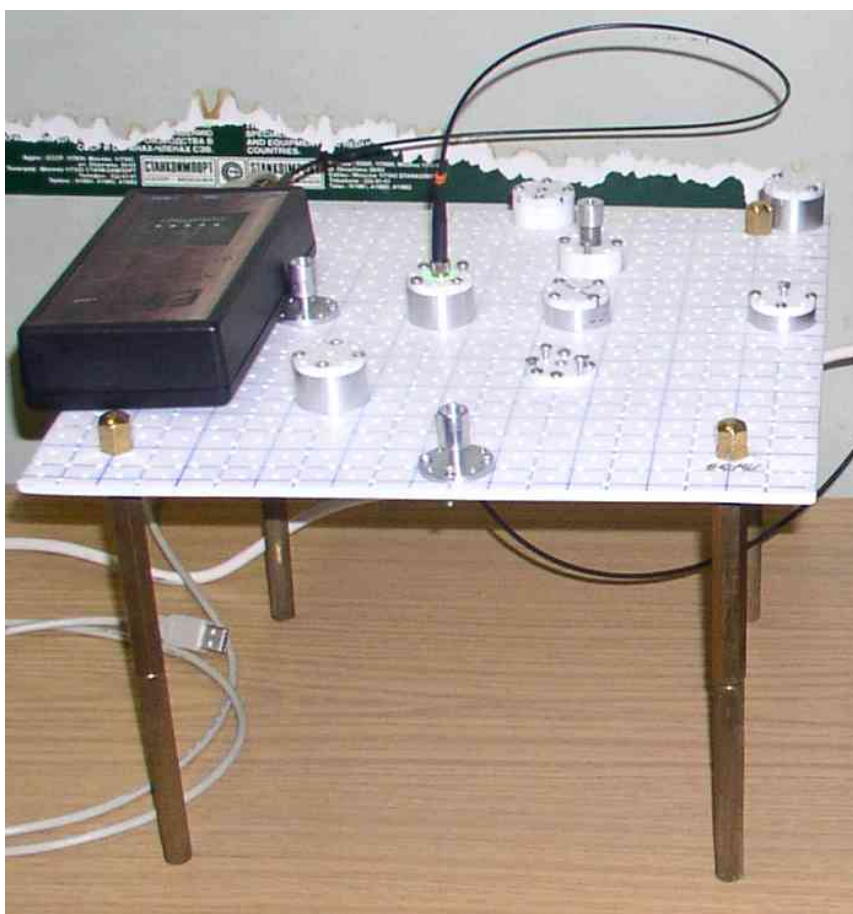


Рис.7. Внешний вид кюветного блока с миниспектрометром.

Ранее для исследования вторичного излучения в молекулярных средах использовались различные виды кювет:

кварцевые прямоугольные кюветы, металлические цилиндрические кюветы и др.

Нами была поставлена цель создания нового типа кювет для исследования вторичного излучения в молекулярных средах. Характерной особенностью создаваемых кювет должно было быть наличие капилляра малого диаметра и различной длины. Схема капиллярной кюветы, использованной нами в экспериментах, результаты которых мы приведём ниже, показана на рис. 8.

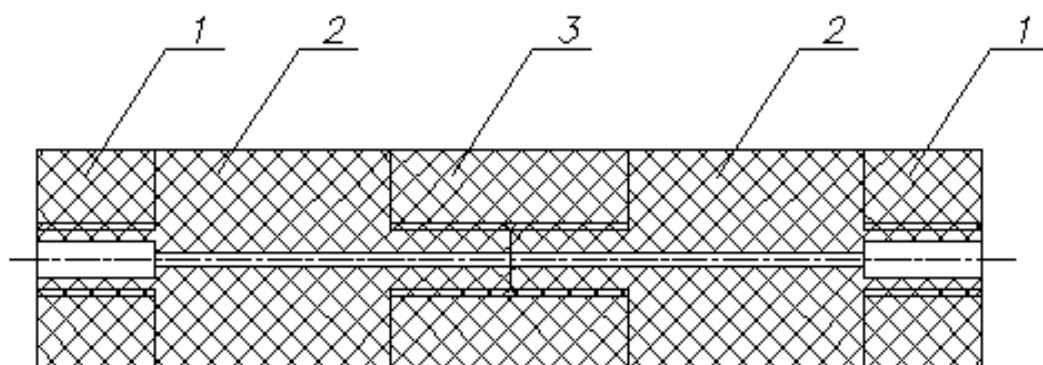


Рис.8. Капиллярная кювета для исследования вторичного излучения в молекулярных средах: 1-заглушки, 2- переходники, 3-муфта.

В данной кювете имеется два отверстия: в правой и левой частях. Отверстие в правой части служит для ввода световода, несущего возбуждающее излучение. Отверстие в левой части служит для вывода световода, несущего вторичное излучение. Диаметр отверстий равен 3 мм. Диаметр капилляра в нашем случае равен 1 мм, но может быть уменьшен. Вещество вводится в капилляр через отверстие в правой части. Перед этим с него снимается заглушка 1. После снятия второй заглушки мы вводим последовательно оба световода. После завершения эксперимента мы закрываем кювету обеими заглушками для того, чтобы вещество не выливалось из капилляра. Этим мы обеспечиваем возможность временного хранения вещества в кювете. Длина капилляра в данном варианте ограничена заданной длиной переходников 2, но существует возможность увеличения длины капилляра за счёт добавления таких деталей, как переходники 2 и муфты 3. Интенсивность излучения может в этом случае увеличиваться пропорционально длине капилляра. При малых

диаметрах капилляра в такой кювете возможно проявление нелинейных оптических процессов.

2.2. Блок регистрации спектров.

Вторичное излучение, полученное в ходе взаимодействия света с веществом внутри капиллярной кюветы, поступает через кварцевый световод на оптический вход миниспектрометра.

Миниспектрометр FSD8 (см. рис. 7) предназначен для высококачественной регистрации и анализа спектральных характеристик объектов, обладающих излучающими свойствами в области как видимого диапазона, так и областей ближайших инфракрасного и ультрафиолетового излучения.

Миниспектрометр обладает малыми габаритами и оснащен высокоскоростным портом обмена информацией стандарта USB для совместной работы с персональным компьютером. В качестве входной оптической щели измерительной схемы служит оптическое волокно диаметром 50, 100 или 200 мкм, снабженное оптическим разъемом, установленным на стенке прибора и позволяющим подключать внешний оптоволоконный кабель для доставки оптического излучения. Следует отметить, что мобильность прибора ограничена только длинами оптоволоконного и USB кабелей.

Основные технические данные миниспектрометра представлены в таблице 1.

Оптическая схема миниспектрометра FSD8 представлена на рис. 9. Входное отверстие 2, являющееся полированным торцом оптоволоконна, находится в фокальной плоскости сферической (вогнутой) дифракционной решетки 5. Дифракционная решетка раскладывает световой сигнал на монохроматические составляющие и создает в своей фокальной плоскости изображение спектра. В этой фокальной плоскости установлен оптический датчик с линейно расположенными светочувствительными элементами (пикселями) 3. Спектральное разрешение оптического датчика составляет 0,5 нм.

Таблица 1. Характеристики миниспектрометра FSD-8

№	Характеристика	Численные значения	Примечания
1	Спектральный диапазон в длинах волн	240-1000 нм	
2	Дифракционная решетка	300 штр/мм	
3	Спектральное разрешение	2 нм	вход 50мкм
		3 нм	вход 100мкм
		4,5 нм	вход 200мкм
4	Чувствительность	0.1-0.2 нВт	для длины волны 632.8нм
5	Дисперсия по длине волны	2-4 нм	
6	Оптический детектор		TCD1304AP (или TCD1304DJ)
7	Число пикселей детектора	3648	
8	Размер пикселя CCD	0,008 x 0,2 мм	
9	Минимальное время экспозиции	100 мкс	
10	Максимальное время экспозиции	1 с	
11	Разрядность АЦП	14 бит	
12	Время измерения одного полного спектра	20 мс	
13	Синхронизация	5-20мкс	внешняя, импульс положительный 5-10 В
14	Оптический разъем		для SMA-905
15	Источник питания		питание осуществляется через шину USB
16	Потребляемый ток не более	40 мА	
17	Габаритные размеры	170 x 85 x 37 мм	
18	Вес не более	350 грамм	

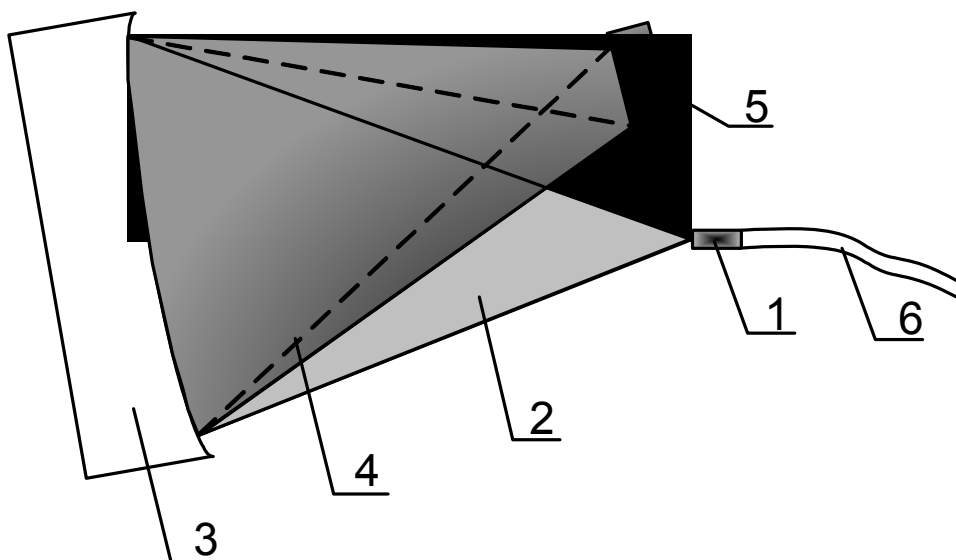


Рис. 9. Оптическая схема миниспектрометра FSD8: 1 – входная щель миниспектрометра, 2 – исследуемое излучение, 3 – сферическая дифракционная решетка, 4 - продифрагировавшее излучение, 5 – оптический датчик, 6 - световод.

Прилагаемое к миниспектрометру программное обеспечение “FSD Soft” предназначено для совместной работы миниспектрометра с компьютером в среде Windows XP, Windows 2000. Данное программное обеспечение позволяет непосредственно из окна программы выбрать режим сканирования (дискретный или непрерывный); установить время засветки оптического датчика, что определяет чувствительность прибора; а также усреднить измеренный спектр в случае сильного зашумления измеряемого излучения.

2.3. Импульсно-периодический лазер

Лазер на парах меди генерирует излучение в видимой области спектра с длинами волн 510,6 и 578,2 нм. Средняя мощность излучения для приборов такого типа достигает 10 Вт. Излучение генерируется в импульсно-периодическом режиме с большой частотой следования (10^4 Гц) коротких (20 нс) импульсов генерации с пиковой мощностью 10^5 Вт. Высокая пиковая мощность лазерного излучения позволяет осуществить эффективное удвоение и сложение частот линий генерации лазера путем использования нелинейно-оптических кристаллов (BaB_2O_4). Таким образом, на выходе лазерной установки было

получено ультрафиолетовое излучение с длинами волн 255,3; 271,2 и 289,1 нм. Использование селективного элемента в лазерном резонаторе позволило выделять только одну из линий возбуждения. Наиболее эффективной для решения поставленной задачи оказалась вторая оптическая гармоника зеленой линии (510,6 нм) генерации, соответствующая длине волны излучения $\lambda=255,3$ нм. Излучение с такой длиной волны весьма эффективно поглощается всеми ароматическими соединениями, а также микроорганизмами, в составе которых присутствуют хромофорные группы в виде гетероароматических аминокислот (триптофан, тирозин, фенил-аланин) и нуклеиновых оснований (аденин, гуанин, цитозин, тимин и урацил).

Схема эксперимента с использованием импульсно-периодического лазера приводится на рис. 10. Излучение от активного элемента (2) лазера на парах меди, работающего в режиме неустойчивого резонатора, фокусировалось длиннофокусной линзой в нелинейно-оптическом кристалле (4). Кристалл BaB_2O_4 был вырезан таким образом, что условие синхронизма выполнялось для удвоения частот исходного лазерного излучения. Таким образом, на выходе кристалла возникало ультрафиолетовое излучение с длинами волн 255,3, 271,2 или 289,1 нм. Излучение лазера видимого диапазона возвращалось в резонатор с помощью диэлектрического зеркала (6), помещаемого сразу после нелинейно-оптического кристалла. Коэффициент преобразования видимого излучения в ультрафиолетовое составлял около 1%. Таким образом, возбуждающее ультрафиолетовое излучение характеризовалось средней мощностью 10 мВт и пиковой мощностью 100 Вт. Ультрафиолетовое излучение фокусировалось в цилиндрическую кварцевую кювету с плоскопараллельными окнами и прозрачной цилиндрической боковой поверхностью. Вторичное излучение, возникающее в кювете (13), представляет собой флюоресценцию ароматических и других хромофоров, а также комбинационное рассеяние (КР) света, возникающее за счет неупругих процессов, сопровождающихся возбуждением колебательных уровней в молекулах воды, а также в других молекулах, присутствующих в воде в виде посторонних компонентов.

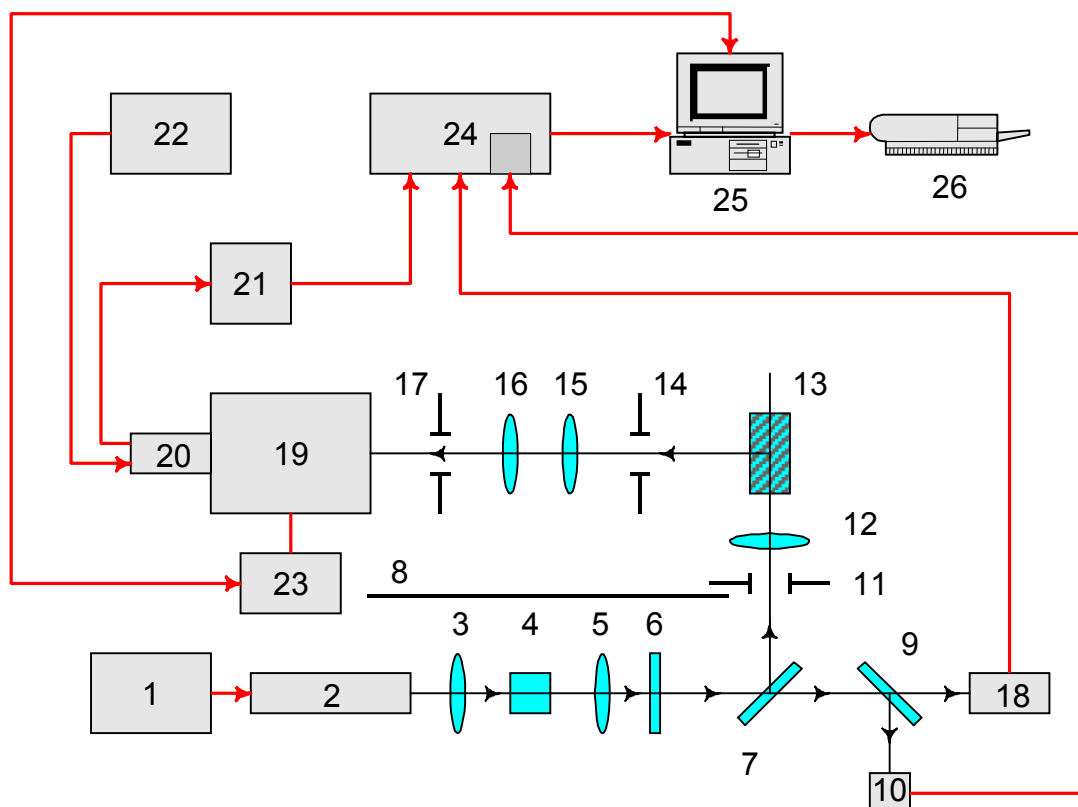


Рис. 10. Схема установки для наблюдения вторичного излучения в водных растворах ароматических соединений: 1 – блок питания лазера; 2 – активный элемент лазера; 3, 5, 12, 15, 16 – кварцевые линзы; 4 – нелинейно-оптический кристалл; 6, 7, 9 – диэлектрические зеркала; 8 – экран; 10 – блок формирования строб-импульса; 11, 14, 17 – диафрагмы; 13 – кювета с исследуемым веществом; 18 – фотодиод; 19 – монохроматор; 20 – фотоумножитель; 21 – усилитель; 22 – блок питания ФЭУ; 23 – шаговый двигатель; 24 – система регистрации; 25 – компьютер; 26 – принтер.

Вторичное излучение собиралось кварцевым конденсором под углом 90° к направлению возбуждающего луча; щель спектрометра (19) МСД-2 была расположена в фокальной плоскости второго кварцевого конденсора. Регистрация ультрафиолетового излучения осуществлялась с помощью фотоумножителя (20) ФЭУ-106, работающего в режиме счета фотонов. За счет отвода малой доли возбуждающего излучения в блоке 10 формировался строб-импульс длительностью 30 нс. Этот импульс вводился в систему регистрации для временного сканирования. Строб-импульс позволял регистрировать спектры вторичного излучения при различных временах задержки в

диапазоне 0 – 300 нс. Дифракционная решётка спектрометра поворачивалась с помощью шагового двигателя, управляемого с помощью компьютера. Время накопления сигнала при фиксированном положении дифракционной решетки изменялось в диапазоне 0,1 – 100 с в зависимости от интенсивности регистрируемого сигнала. Информация от регистрирующего устройства накапливалась в компьютере.

3. Спектры водных растворов ароматического красителя при непрерывном световом возбуждении.

На рис. 11-12 приводятся спектры вторичного излучения исходной воды при возбуждении светодиодами с длинами волн 463 и 527 нм, зарегистрированные по схеме, показанной на рис.1. Пунктирными линиями показаны спектры возбуждающего излучения соответствующих светодиодов. Приведенные спектры вторичного излучения в исходной воде необходимы для установления изменений в исследуемых спектрах при введении в воду красителя.

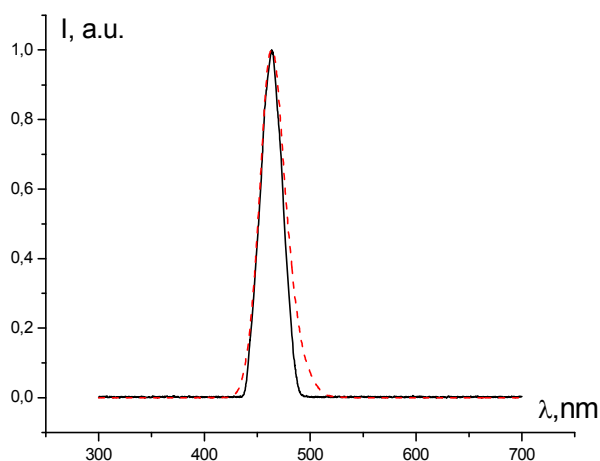


Рис. 11. Спектр вторичного излучения воды (сплошная кривая) при возбуждении светодиодом с длиной волны 463 нм (пунктир); экспозиция 128мс.

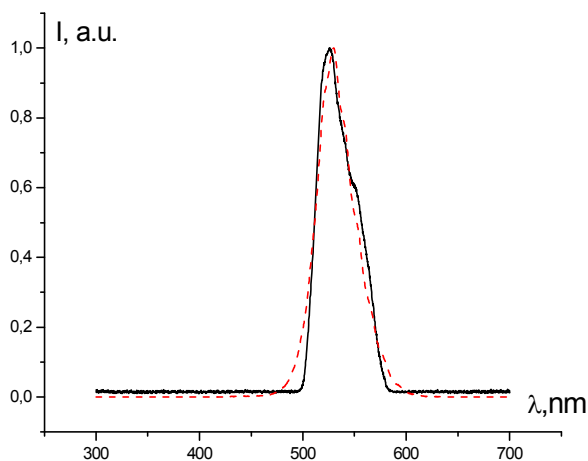


Рис. 12. Спектр вторичного излучения воды (сплошная кривая) при возбуждении светодиодом с длиной волны 527 нм (пунктир); экспозиция 2с.

Из рис. 11-12 можно сделать вывод о том, что в исследуемых пробах воды при их возбуждении ультрафиолетовыми источниками излучения фотолюминесценция не проявляется. Это свидетельствует о том, что в исходной воде концентрация ароматических соединений очень мала. Соответственно, в спектрах вторичного излучения водных растворов красителей не должны проявляться какие-либо посторонние полосы, не связанные с молекулярными переходами в молекуле красителя.

На рис. 13-14 приводятся спектры вторичного излучения раствора Rhodamine 6G (R6G) в воде при возбуждении светодиодом с длиной волны 463 нм в диапазоне концентраций 10^{-3} - 10^{-5} г/л.

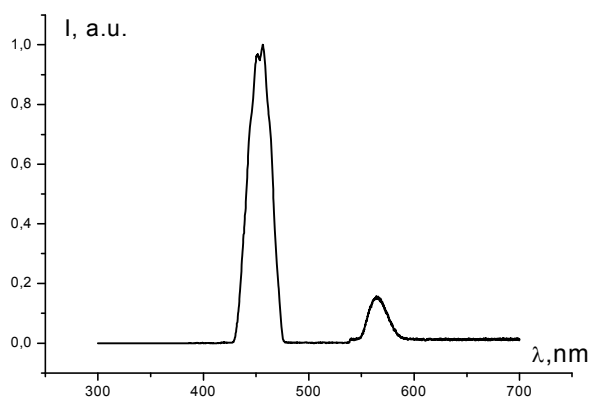


Рис. 13. Спектр вторичного излучения раствора 10^{-3} г/л R6G в воде (сплошная кривая) при возбуждении светодиодом с длиной волны 463 нм, экспозиция 2с.

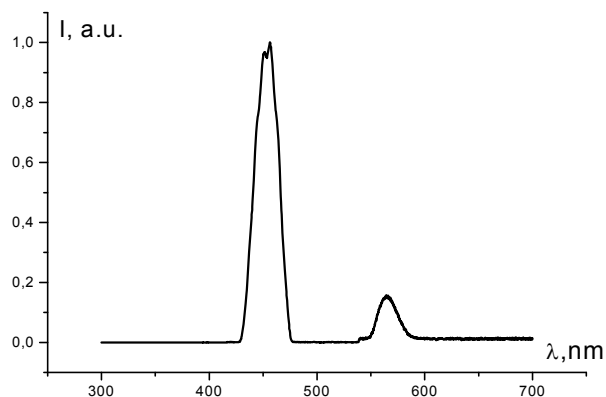


Рис. 14. Спектр вторичного излучения раствора 10^{-5} г/л R6G в воде (сплошная кривая) при возбуждении светодиодом с длиной волны 463 нм, экспозиция 8мс.

На рис. 13 спектр вторичного излучения R6G в воде наблюдался нами при концентрации 10^{-3} г/л. При данной концентрации интенсивность полосы (590 нм) излучения R6G существенно меньше интенсивности полосы (463 нм) возбуждающего излучения полупроводникового светодиода. При концентрации 10^{-5} г/л (рис. 14) полученный спектр качественно не отличается от предыдущего. При более низких концентрациях сигнал фотолюминесценции исследуемого вещества не превышал уровня шума.

На рис. 15-16 приводятся спектры вторичного излучения раствора *R6G* в воде при возбуждении светодиодом с длиной волны 527 нм в диапазоне концентраций 10^{-9} - 10^{-3} г/л. Пунктирными линиями показан спектр возбуждающего излучения данного светодиода.

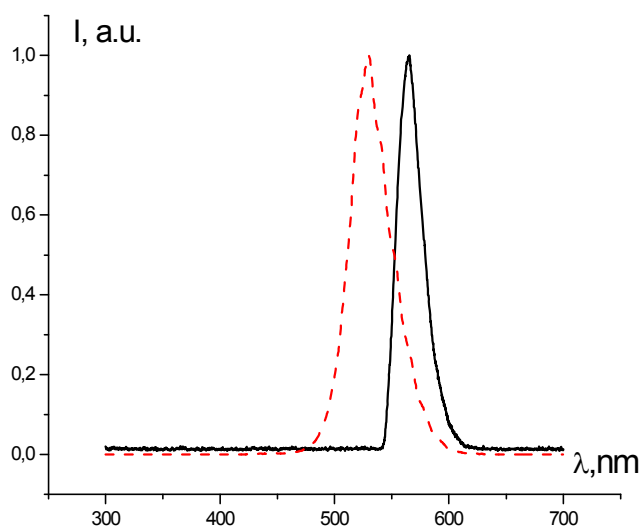


Рис. 15. Спектр вторичного излучения раствора 10^{-3} г/л *R6G* в воде (сплошная кривая) при возбуждении светодиодом с длиной волны 527 нм (пунктир), экспозиция 1с.

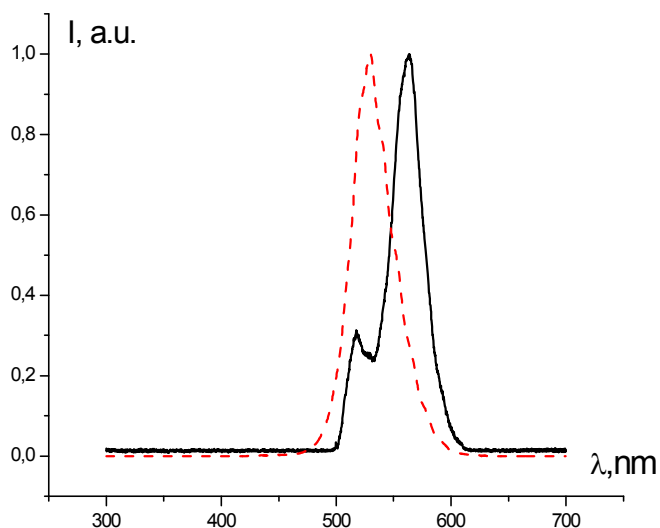


Рис. 16. Спектр вторичного излучения раствора 10^{-5} г/л *R6G* в воде (сплошная кривая) при возбуждении светодиодом с длиной волны 527 нм (пунктир), экспозиция 4с.

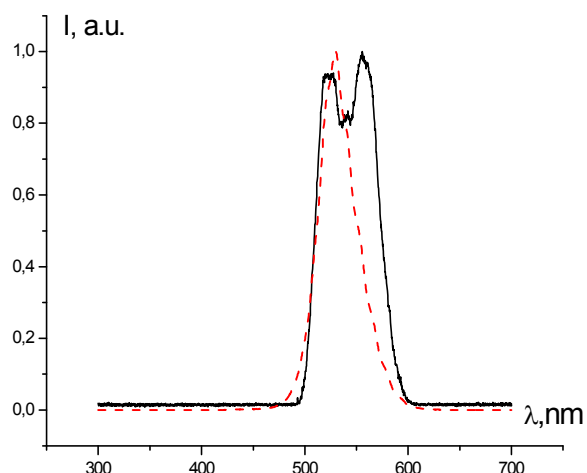


Рис. 17. Спектр вторичного излучения раствора 10^{-7} г/л R6G в воде (сплошная кривая) при возбуждении светодиодом с длиной волны 527 нм (пунктир), экспозиция 8с.

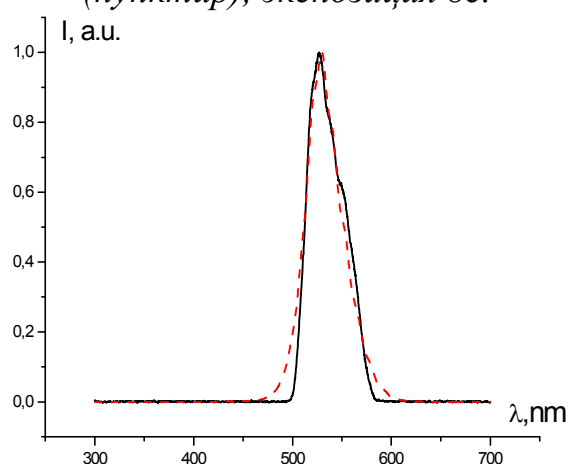


Рис. 18. Спектр вторичного излучения раствора 10^{-9} г/л R6G в воде (сплошная кривая) при возбуждении светодиодом с длиной волны 527 нм (пунктир), экспозиция 32мс.

На рис. 15 показан спектр вторичного излучения R6G в воде при концентрации 10^{-3} г/л. При данной концентрации наблюдается только полоса (590 нм) излучения R6G, а полоса (527 нм) возбуждающего излучения светодиода отсутствует. С уменьшением концентрации до 10^{-7} г/л (рис. 16-17) интенсивность полосы фотолюминесценции R6G постепенно сравнивается с интенсивностью полосы возбуждающего излучения светодиода. При концентрации 10^{-9} г/л (рис. 18) полоса излучения R6G отсутствует, но небольшие отклонения от полосы возбуждающего излучения светодиода существуют. При более низких концентрациях сигнал фотолюминесценции исследуемого вещества не превышал уровня шума.

Следует отметить, что при переходе от возбуждения с длиной волны 463 нм к 527 нм интенсивность люминесценции R6G возросла более чем на четыре порядка.

На рис. 19 - 22 приводятся спектры вторичного излучения раствора R6G в воде при возбуждении “белым светодиодом” в диапазоне концентраций 10^{-9} - 10^{-3} г/л. Пунктирными линиями показан спектр возбуждающего излучения данного светодиода.

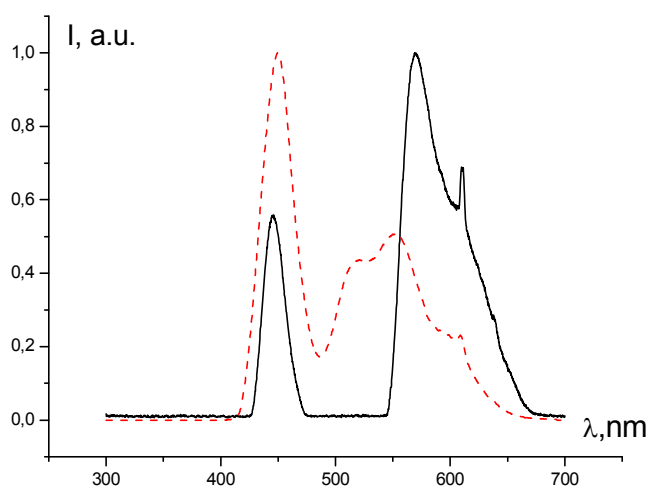


Рис. 19. Спектр вторичного излучения раствора 10^{-3} г/л R6G в воде (сплошная кривая) при возбуждении “белым светодиодом” (пунктир), экспозиция 1с.

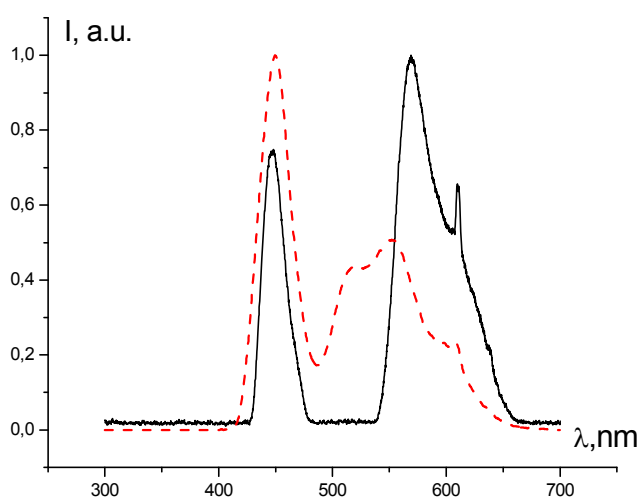


Рис. 20. Спектр вторичного излучения раствора 10^{-5} г/л R6G в воде (сплошная кривая) при возбуждении “белым светодиодом” (пунктир), экспозиция 1с.

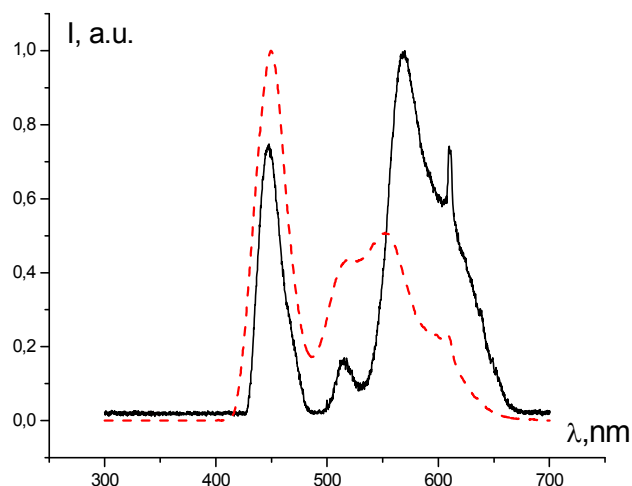


Рис. 21. Спектр вторичного излучения раствора 10^{-7} г/л R6G в воде (сплошная кривая) при возбуждении “белым светодиодом” (пунктир), экспозиция 8с.

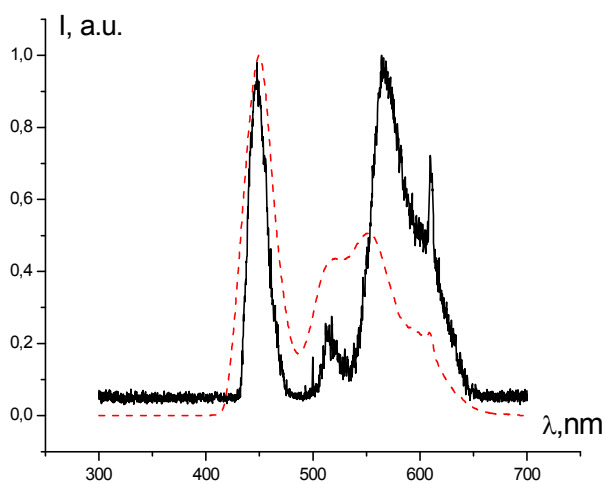


Рис. 22. Спектр вторичного излучения раствора 10^{-9} г/л R6G в воде (сплошная кривая) при возбуждении “белым светодиодом” (пунктир), экспозиция 8с.

На рис. 19 спектр вторичного излучения R6G в воде получен при концентрации 10^{-3} г/л. При данной концентрации интенсивность полосы (590 нм) излучения R6G несколько больше интенсивности полосы (440 нм) части спектра возбуждающего излучения светодиода. При уменьшении концентрации красителя до 10^{-9} г/л (рис. 20-22) полоса фотолюминесценции R6G сужается и постепенно полностью переходит в появившуюся полосу возбуждающего излучения

данного светодиода. При более низких концентрациях сигнал фотолюминесценции исследуемого вещества не превышал уровня шума.

На рис. 23 представлены спектры вторичного излучения при возбуждении светодиодом с длиной волны 367 нм нескольких водных сред, полученные при 180-градусной геометрии (см. схему на рис. 2): писчей бумаги(1), пропитанной водой, воды из водопроводной сети (2), раствора 10^{-6} г/л РОРОР в воде (3), раствора 10^{-6} г/л R6G в воде (4). Спектры вторичного излучения различных типов молекулярного, как видно из рис. 23, существенно различаются.

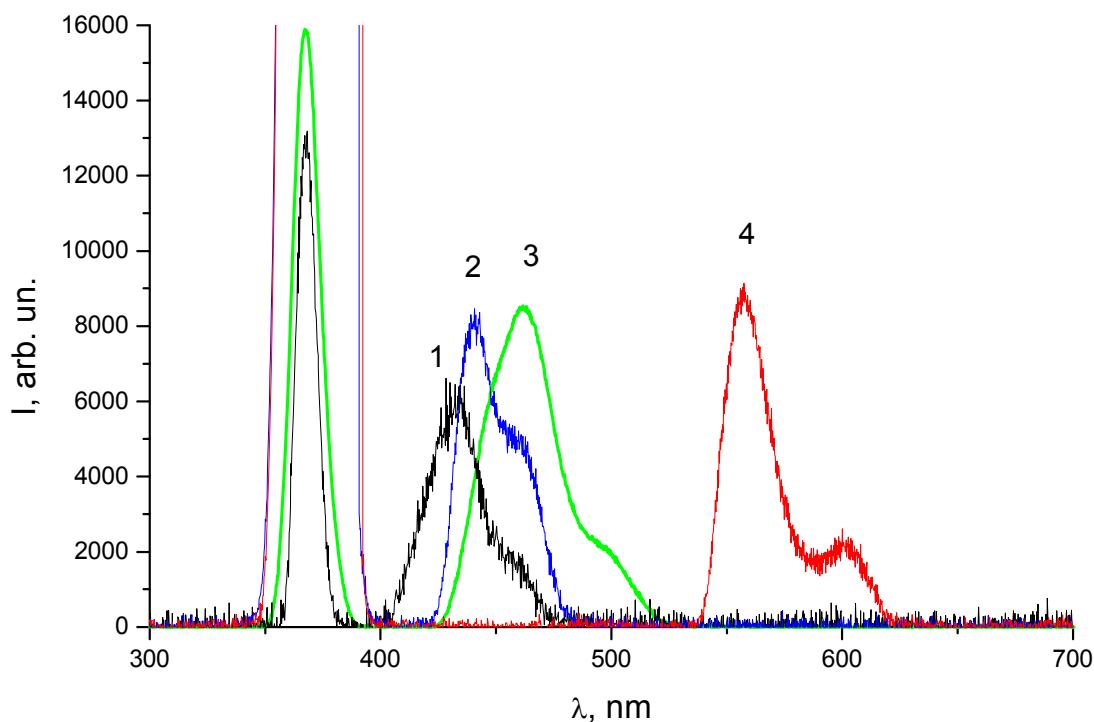


Рис. 23. Спектры вторичного излучения (при 180-градусной геометрии) различных веществ: бумаги(1), водопроводной воды (2), раствора 10^{-6} г/л РОРОР в воде (3), раствора 10^{-6} г/л R6G в воде (4) при возбуждении светодиодом с длиной волны 367 нм.

На рис. 24 представлены спектры вторичного излучения нескольких веществ, полученные при дистанционном зондировании (см. схему на рис. 3) исследуемых водных взвесей светодиодом с длиной волны 367 нм: антрацена (1), 10^{-3} г РОРОР

в воде (3), РРО (4) и стильбена (5). Кривая 2 соответствует спектру сухого порошка РОРОР при контактном зондировании. Как видно из этого рисунка, спектр вторичного излучения (кривая 3), полученный при дистанционном зондировании, хорошо коррелирует с соответствующим спектром, полученным при контактном зондировании (кривая 2).

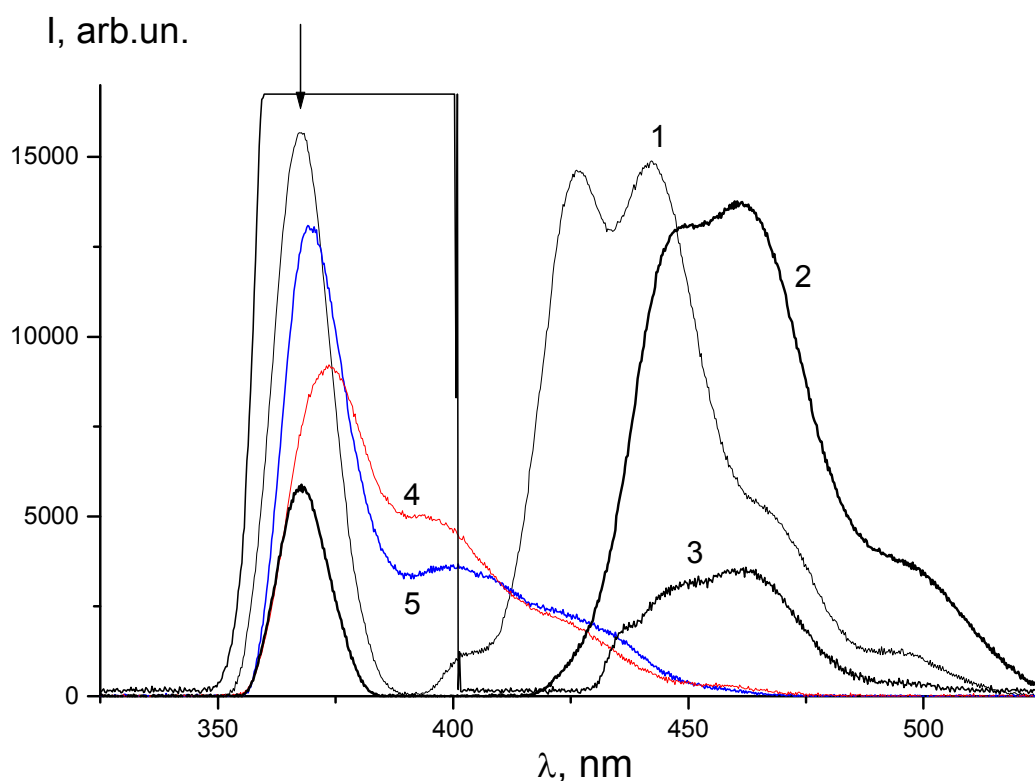


Рис. 24. Спектры вторичного излучения (при 180-градусной геометрии) различных водных взвесей, полученные при дистанционном зондировании: антрацена (1), РОРОР (3), РРО(4) и стильбена(5) при возбуждении светодиодом с длиной волны 367 нм (отмечена стрелкой). Кривая 2 соответствует спектру сухого порошка РОРОР при контактном зондировании.

4. Особенности спектров КР и флуоресценции различных проб воды, возбуждаемых ультрафиолетовым импульсно-непрерывным лазерным источником света.

Известно [8], что в спектре КР воды присутствуют полосы, соответствующие трем фундаментальным типам колебаний молекулы H_2O : A_1 -тип, $\nu_1=3450 \text{ см}^{-1}$ (валентное полносимметричное колебание); A_1 -тип, $\nu_2=1645 \text{ см}^{-1}$ (деформационное полносимметричное колебание) и B_1 -тип, $\nu_3=3830 \text{ см}^{-1}$ (валентное неполносимметричное колебание).

Для исследования спектров КР воды нами были подготовлены различные пробы, полученные путем очистки исходной воды с помощью различных коммерческих фильтров, разработанных к настоящему времени промышленностью. Были зарегистрированы спектры флуоресценции таких проб по схеме, показанной на рис.10.

Рис. 25 иллюстрирует результаты анализа этих спектров для различных фильтров. На этом рисунке слева присутствует возбуждающая линия ($\lambda=255,3 \text{ нм}$); затем виден резкий пик (показан стрелкой), соответствующий КР в воде на полносимметричном колебании $\nu_1=3450 \text{ см}^{-1}$; при больших значениях длин волн проявляются полосы флуоресценции, обусловленные присутствием ароматических хромофоров в пробах воды. Как видно из этого рисунка, кривая 1 (фильтр «Аквафор Модерн») соответствует наименьшей концентрации ароматических компонентов. Для проведения количественного анализа были приготовлены образцы с различным содержанием ароматического компонента – флуорена.

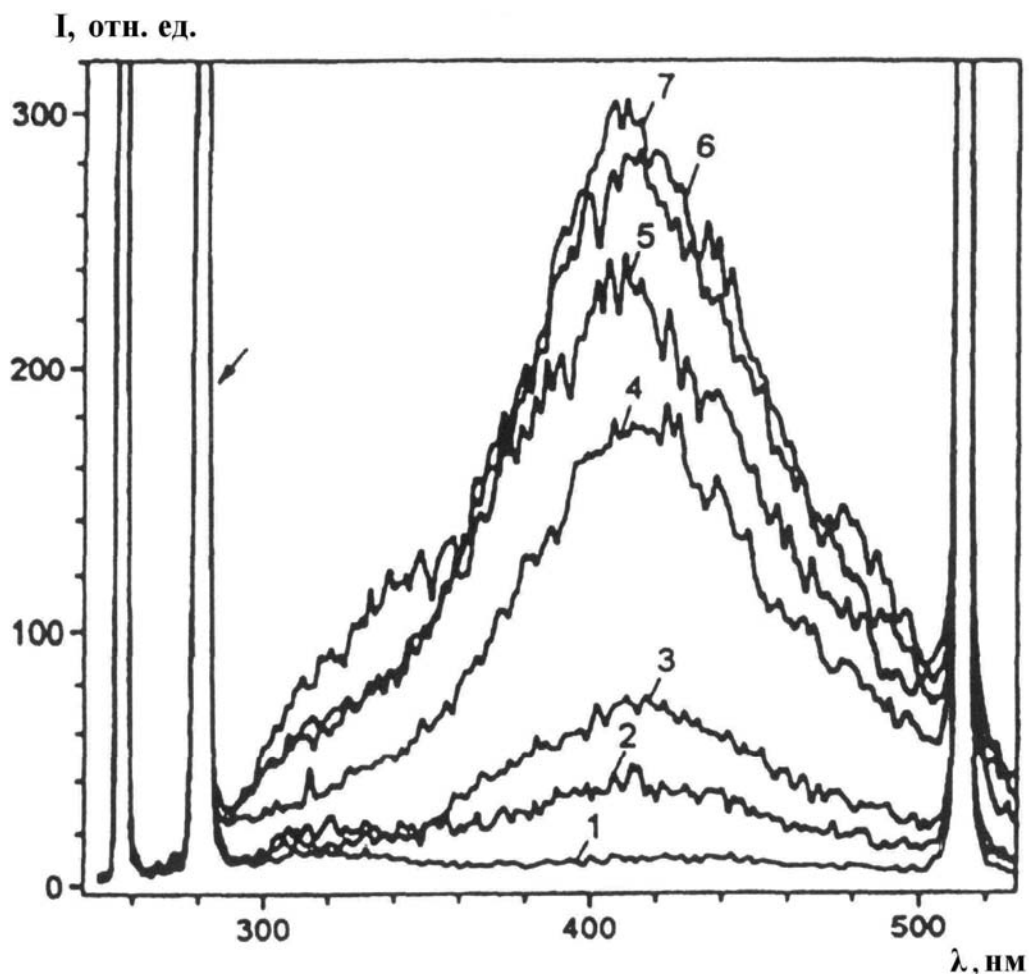


Рис. 25. Спектры КР и флуоресценции различных проб воды: 1 – «Аквафор Модерн», 2 – «Барьер», 3 – «Спринг», 4 – «Парагон», 5 – «Бриз», 6 – «Гейзер», 7 – исходная вода из водопроводной сети г. Москвы. Стрелка соответствует положению линии КР валентного колебания $\nu_1 (A_1)$ молекулы воды.

На рис. 26 приводится сопоставление спектров флуоресценции пробы воды, прошедшей через фильтр «Аквафор Модерн» (кривая 4), водного раствора флуорена с концентрацией 1 мкг/л (кривая 5) и других проб воды (кривые 1, 2, 3), взятых из природных источников. Как видно из этого рисунка, концентрация ароматических компонентов в пробе, соответствующей кривой (4), находится на предельно низком уровне – 1 нг/л. Для пробы 1 уровень концентрации превышает ПДК (1 мкг/л). В пробах 2, 3 концентрация ароматических компонентов ниже уровня ПДК.

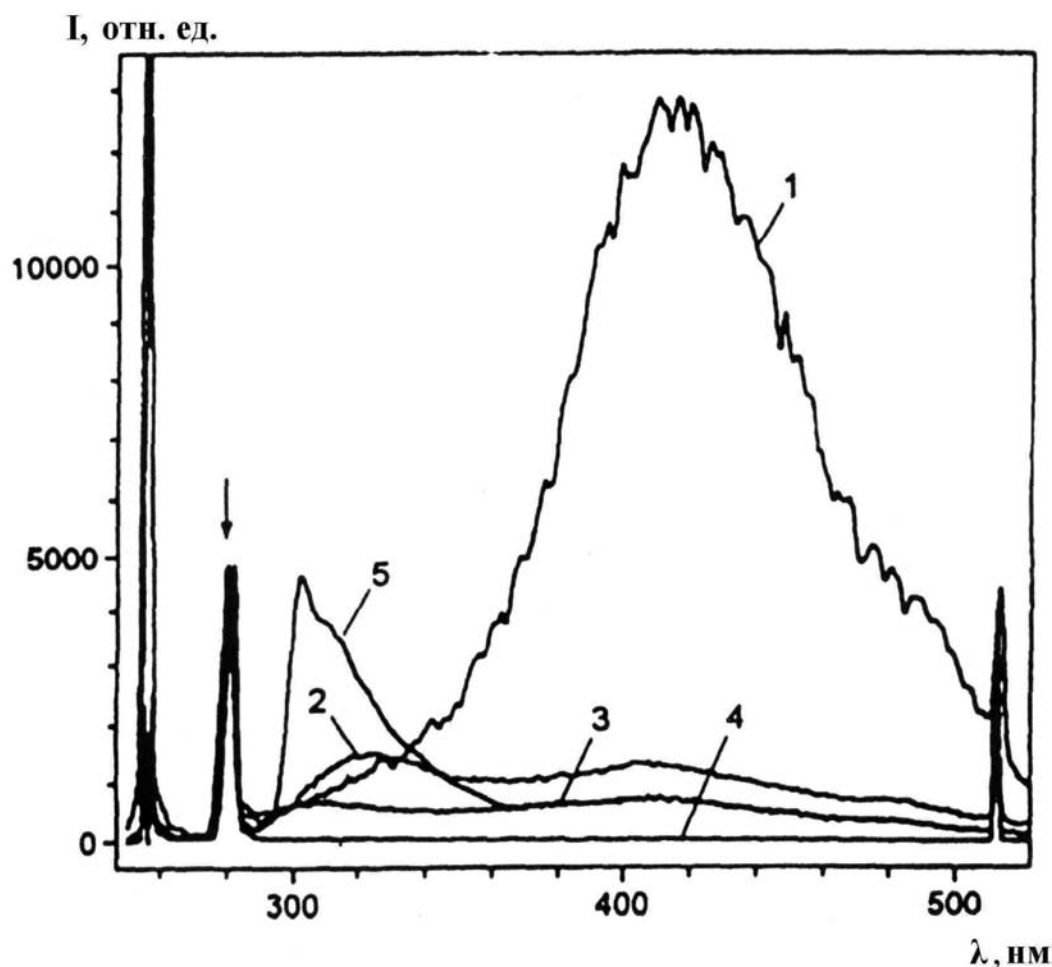


Рис. 26. Спектры КР и флуоресценции водных проб: 1, 2 – вода из водопроводной сети г. Москвы, 3 – «чистая» вода из Подмосковья, 4 – вода, очищенная с помощью фильтра «Аквафор Модерн», 5 – водный раствор флуорена с концентрацией 1 мкг/л. Стрелка показывает положение линии КР полносимметричного колебания $\nu_1(A_1)$ молекулы воды.

Рис. 27 иллюстрирует спектры КР двух проб воды. Кривая (2) соответствует воде, прошедшей обработку через фильтр «Аквафор Модерн»; кривая (1) – пробе воды, взятой из водопроводной сети г. Москвы. На вставке рис. 4 показана область валентного колебания $\nu_1(A_1)$, а на основной части этого рисунка – низкочастотная область спектра КР и область, соответствующая деформационному колебанию $\nu_2(A_1)$. Как видно из этого рисунка, спектр КР, соответствующий «чистой» воде (кривая 2 – проба после фильтра «Аквафор Модерн»), характеризуется интенсивными линиями фундаментальных

колебаний ν_1 и ν_2 ; присутствует также довольно интенсивный пик ν_{cl} в области частот, соответствующих либрационным движениям молекулы H_2O в межмолекулярном кластере. На кривой (1), соответствующей неочищенной воде, имеется ряд дополнительных пиков, обусловленных проявлением полос КР ароматических компонентов.

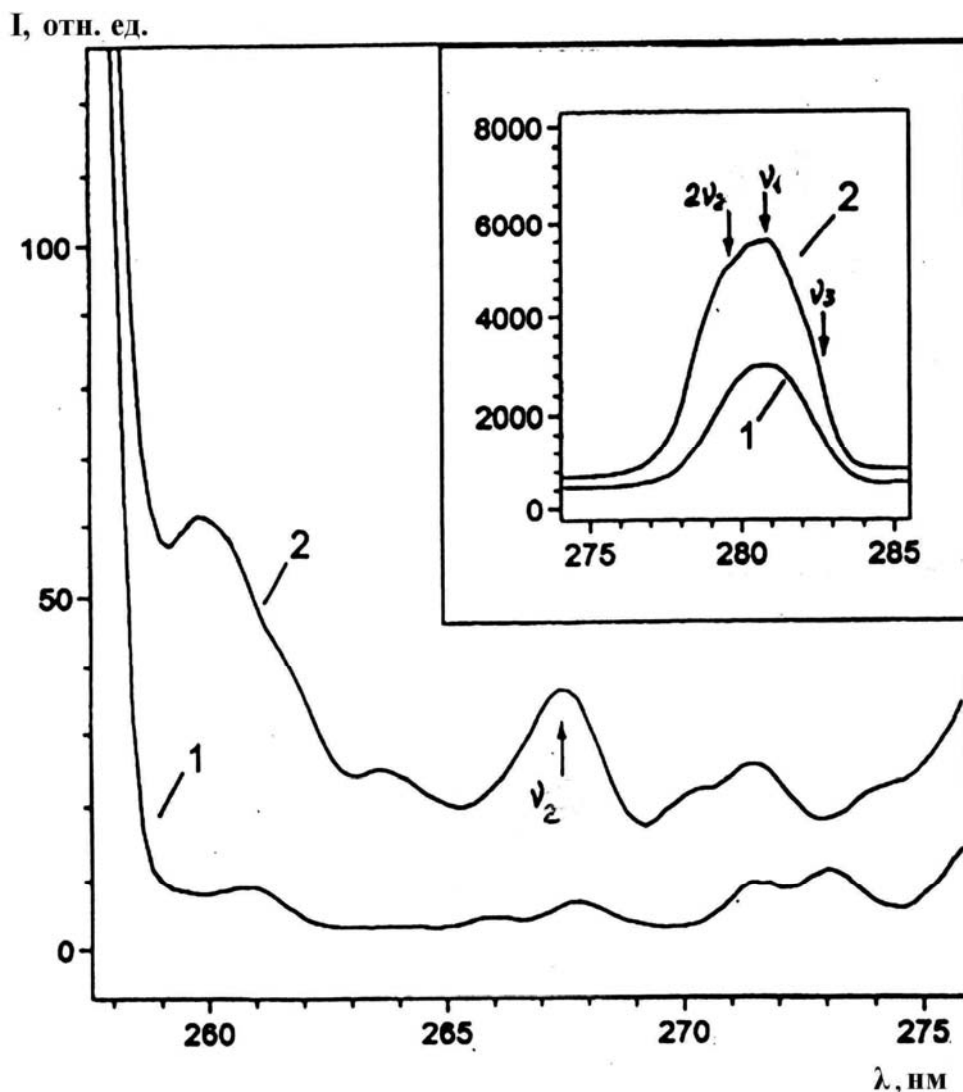


Рис. 27. Сравнение спектров КР воды из водопроводной сети г. Москвы (1), и воды, очищенной фильтром «Аквафор Модерн» (2).

Рис. 28 и 29 дают сравнение спектров воды пробы «Аквафор Модерн», тяжелой воды D_2O и смесей тяжелой и легкой воды. Для тяжелой воды (рис. 28,b) характерно присутствие непрерывного фона в области внутримолекулярных частот; при

этом колебание $\nu_2(A_1)$ практически не обнаруживается в спектре КР. В смесях тяжелой и легкой воды (рис. 6) проявляются интенсивные полосы, обусловленные валентными колебаниями $\nu_1(A_1)$; в области межмолекулярных мод (см. вставку на рис. 29) интенсивность либрационных мод в спектре КР для смеси резко падает.

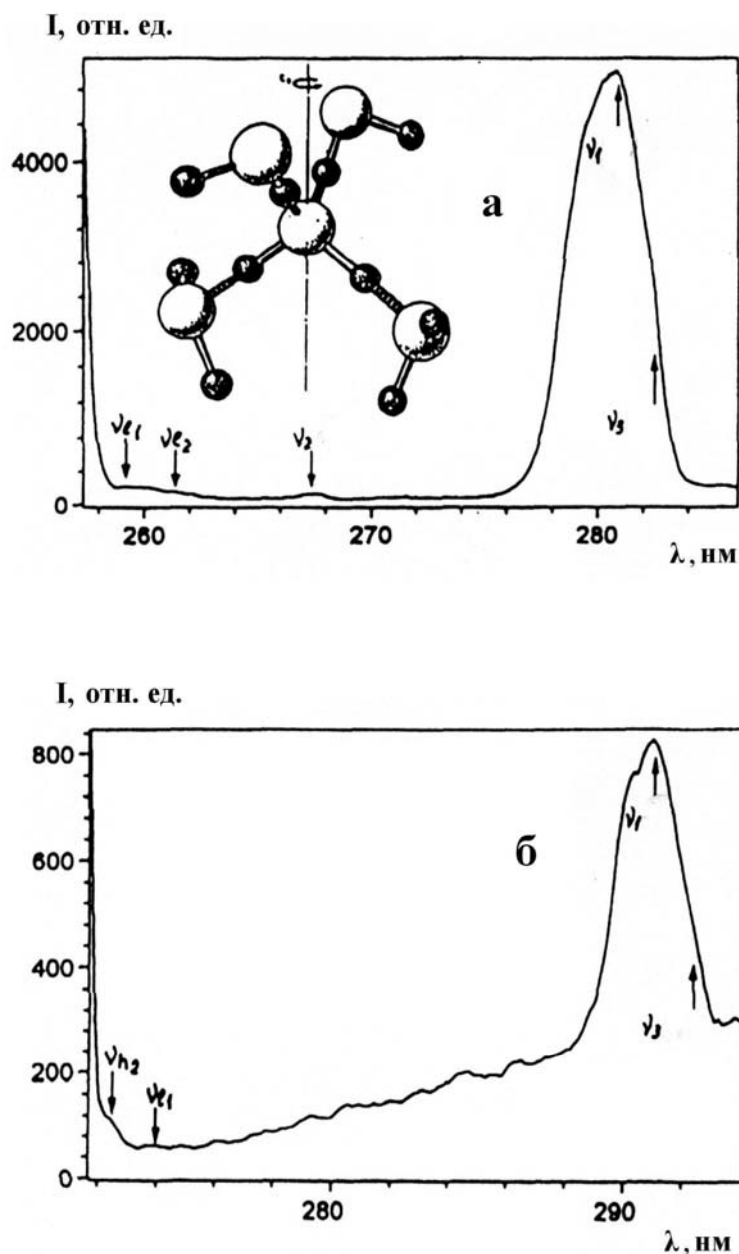


Рис. 28. Спектры КР воды H₂O (а) и D₂O (б). Пробы воды H₂O очищены фильтром «Аквафор Модерн».

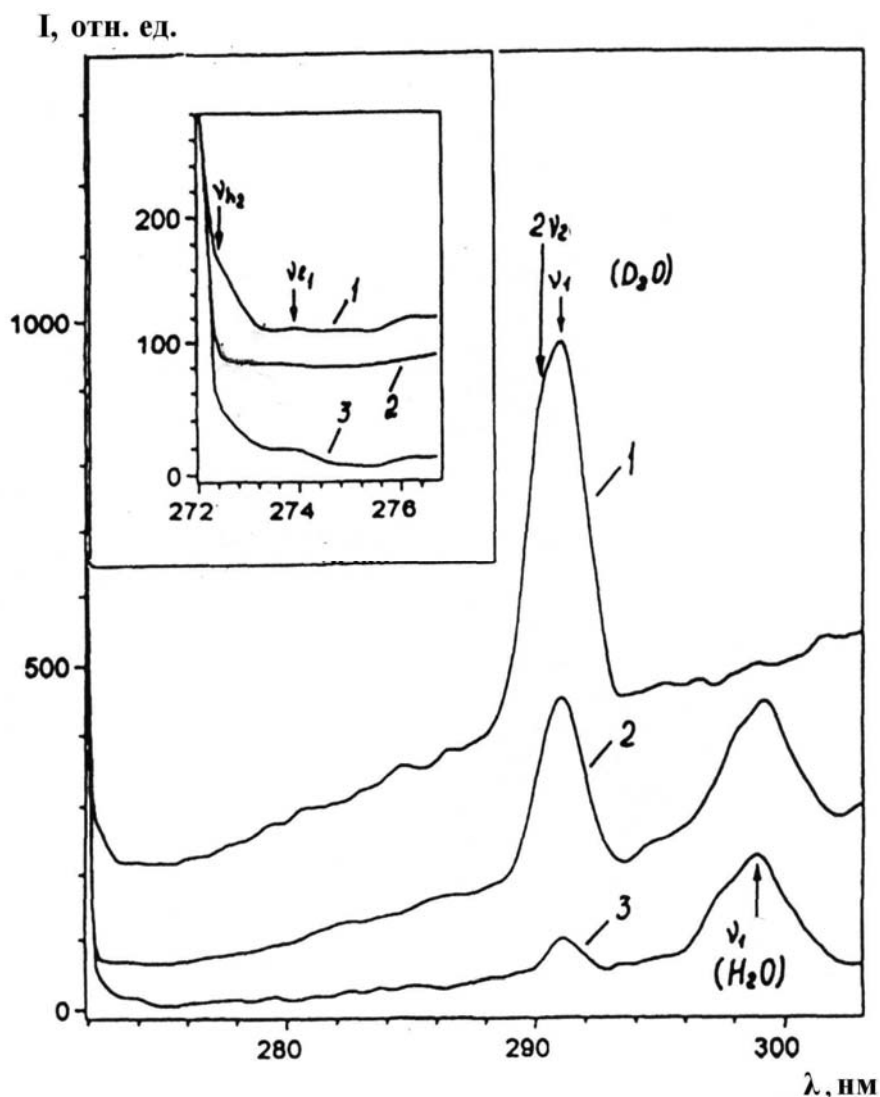


Рис. 29. Сравнение спектров КР легкой воды (H_2O , кривая 3), тяжелой воды (D_2O , кривая 1), и их смеси (кривая 2).

Присутствие межмолекулярных мод либрационного и трансляционного типа в спектрах КР чистой воды (см. табл. 2 и рис. 27 – 29) свидетельствует об образовании квазикристаллической сетки молекулярных кластеров, т.е. характеризует степень структурированности воды. Структурированность воды является важным фактором, связанным с эффективностью усвоения воды клетками живых организмов. Таким образом, интенсивность низкочастотных полос КР, обусловленных межмолекулярными кластерными колебаниями, может служить дополнительным критерием качества воды.

Таблица 2. Частоты внутримолекулярных и межмолекулярных колебаний молекул воды, проявляющихся в спектрах КР.

H₂O				
Тип колебания	Частота, см ⁻¹			
$\nu_{\ell 1}$	475 [8]	510 [9]	450 [10]	470 [1]
$\nu_{\ell 2}$	758 [9]	780 [9]	~780 [10]	~760 [1]
$\nu_2(A_1)$	—	—	1645 [10]	1650 [1]
$\nu_1(A_1)$	—	—	3450 [10]	3450 [1]
$\nu_3(A_1)$	—	—	3630 [10]	3630 [1]
D₂O				
Тип колебания	Частота, см ⁻¹			
ν_{h2}	176 [8]	170 [9]	175 [1]	170 [1]
$\nu_{\ell 1}$	—	350 [11]	~375 [1]	380 [1]
$\nu_1(A_1)$	—	—	2520 [12]	2520 [1]
$\nu_3(A_1)$	—	—	2680 [12]	2670 [1]

Рис. 30 иллюстрирует спектры КР и флуоресценции (на вставке) проб воды, взятых из различных источников: 1, 4 – образцы воды, взятой из московского водопровода; 2 – вода, очищенная с помощью фильтра «Аквафор Модерн», 3 – вода из родника в Подмосковье. Как видно из сравнения этих спектров, степень структурированности воды в обсуждаемых пробах оказывается различной, что устанавливается по виду полос $\nu_{\ell 1}$ и $\nu_{\ell 2}$ межмолекулярных колебаний кластерных комплексов. Наилучшее структурирование имеет место для воды, прошедшей обработку фильтром «Аквафор Модерн». Присутствие посторонних компонентов приводит к появлению широкой полосы флуоресценции (вставка на рис. 30) и дополнительных максимумов в спектрах КР (см. кривые 1, 3, 4).

I, отн. ед.

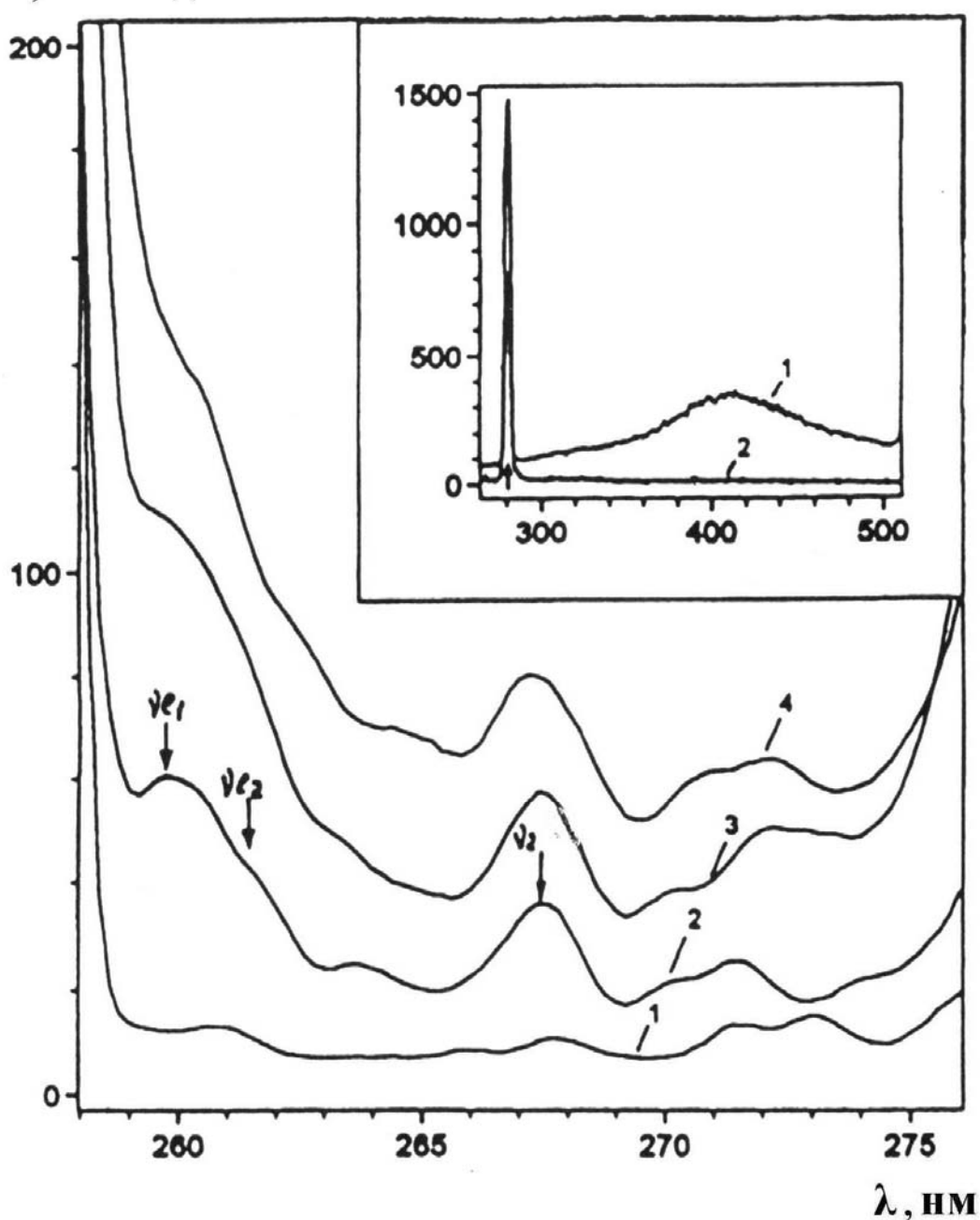


Рис. 30. Спектры КР в низкочастотной области для различных проб воды. На вставке показаны соответствующие участки в длинноволновой области; здесь максимум на кривой 1 соответствует флуоресценции; стрелка на вставке соответствует валентному колебанию $\nu_1(A_1)$.

Спектры вторичного излучения, приведенные на рис. 25–30, соответствуют ситуации, когда строб-импульс в системе регистрации является синхронным с сигналом вторичного излучения. Возможность сдвига по времени этого строба

позволила изучить спектры вторичного излучения, задержанные по отношению к импульсу возбуждающего излучения.

На рис. 31 приводятся спектры водного раствора антрацена с концентрацией 1 мкг/л, полученные без задержки (кривая 1) и с задержкой $\tau = 50$ нс (кривая 2).

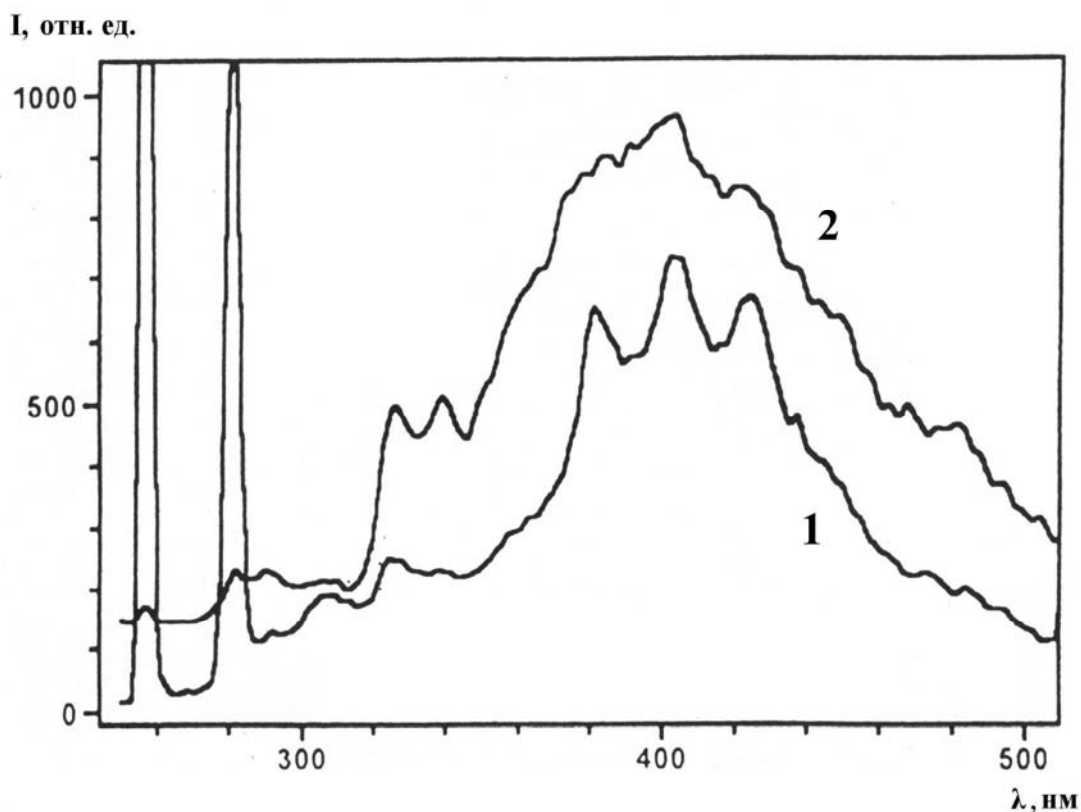


Рис. 31. Спектры вторичного излучения водного раствора антрацена с концентрацией 1 мкг/л, полученные без задержки (кривая 1) и с задержкой $\tau = 50$ нс (кривая 2, приведена с 7-кратным увеличением).

Важно отметить, что спектр «задержанной» флуоресценции (кривая 2 на рис. 31) существенно отличается от «синхронного» спектра: резко ослаблены пики, обусловленные возбуждающим излучением ($\lambda=255,3$ нм) и КР, происходящим практически синхронно с импульсом возбуждающего излучения; ряд максимумов в «задержанном» спектре проявляется гораздо более отчетливо.

Рис. 32 иллюстрирует влияние задержки на спектры вторичного излучения водного раствора флуорена (1мкг/л). При этом кривая (1) на рис. 32,а получена при нулевой задержке, кривая (2) на этом же рисунке соответствует задержке $\tau = 50$ нс;

кривые (1) и (2) на рис. 32,б получены с задержками $\tau = 50$ и 70 нс, соответственно.

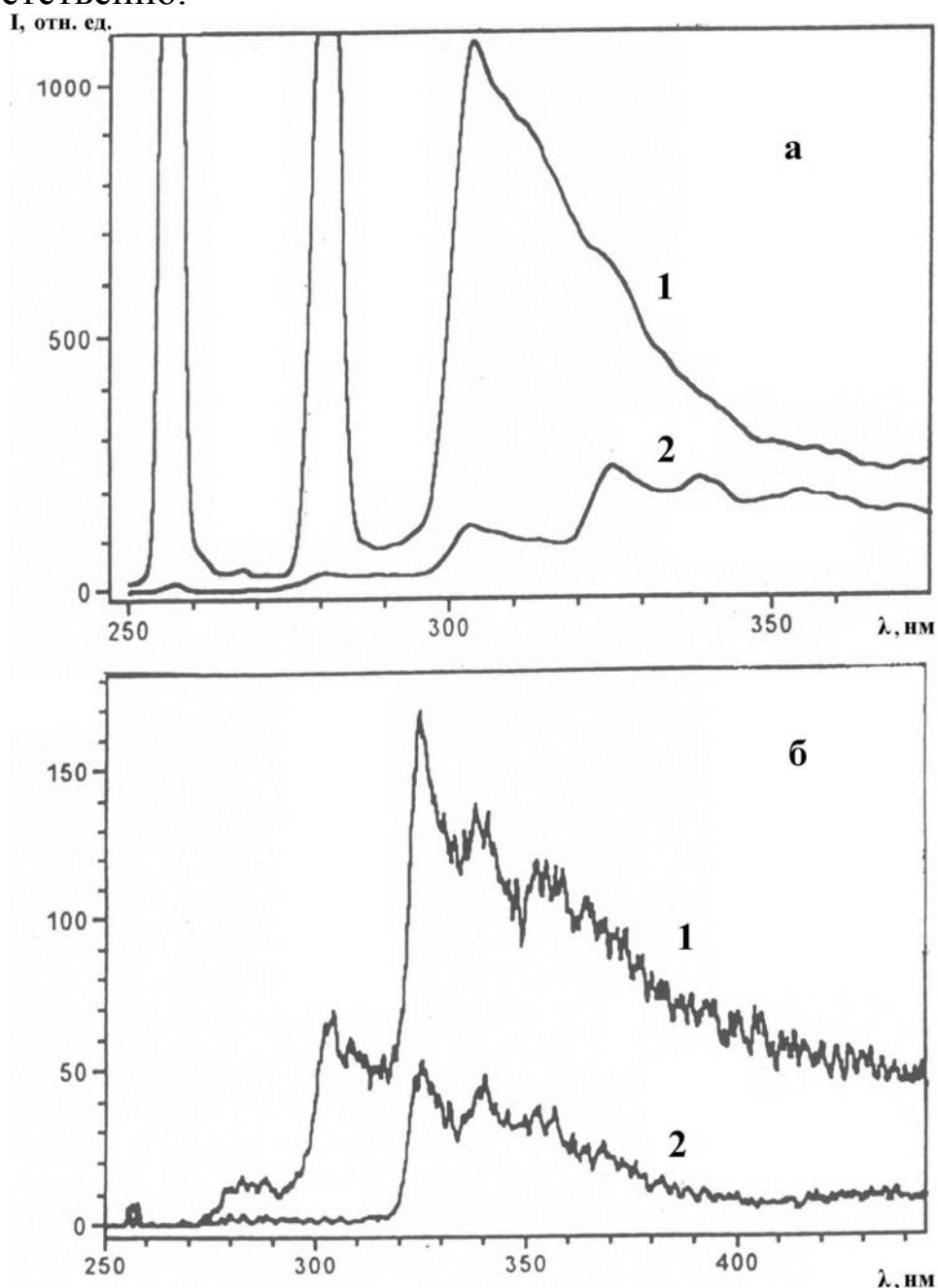


Рис. 32. Спектры вторичного излучения водного раствора флуорена . а: кривая (1)- $\tau = 0$, кривая (2) - $\tau = 50$ нс при той же чувствительности; б: кривые (1) и (2) соответствуют задержке $\tau = 50$ и 70 нс.

Таким образом, анализ спектров вторичного излучения водных растворов с задержкой позволяет получать дополнительную информацию о типах и концентрации посторонних компонентов, присутствующих в воде. При этом

происходит разделение двух видов вторичного излучения: комбинационного рассеяния, синхронного с возбуждающим импульсом, и флуоресценции, «задержанной» во времени.

5. Вторичное излучение микроорганизмов, находящихся в водной среде.

Как одноклеточные, так и многоклеточные организмы могут быть источниками электромагнитного излучения, возникающего в результате процессов их жизнедеятельности. Известно, в частности, что живые организмы характеризуются флуоресценцией, спектр которой расположен в видимом диапазоне.

В микроорганизмах имеются хромофорные группы, связанные с присутствием гетероароматических соединений: аминокислот в белках и нуклеиновых оснований в ДНК и РНК. Спектр флуоресценции таких групп соответствует среднему ультрафиолетовому диапазону. Однако вследствие сильного тушения этой флуоресценции ее наблюдение до последнего времени было затруднено. В настоящей работе на основе развитой методики ультрафиолетового импульсно-периодического возбуждения вторичного излучения в конденсированных средах получены спектры вторичного излучения водных растворов триптофана, взвесей нуклеиновых соединений и двух типов микроорганизмов.

Рис. 33 иллюстрирует полученные спектры флуоресценции водных растворов L-триптофана (основного хромофора белков), возбуждаемые линией 271,2 нм – составным тоном двух линий генерации лазера на парах меди.

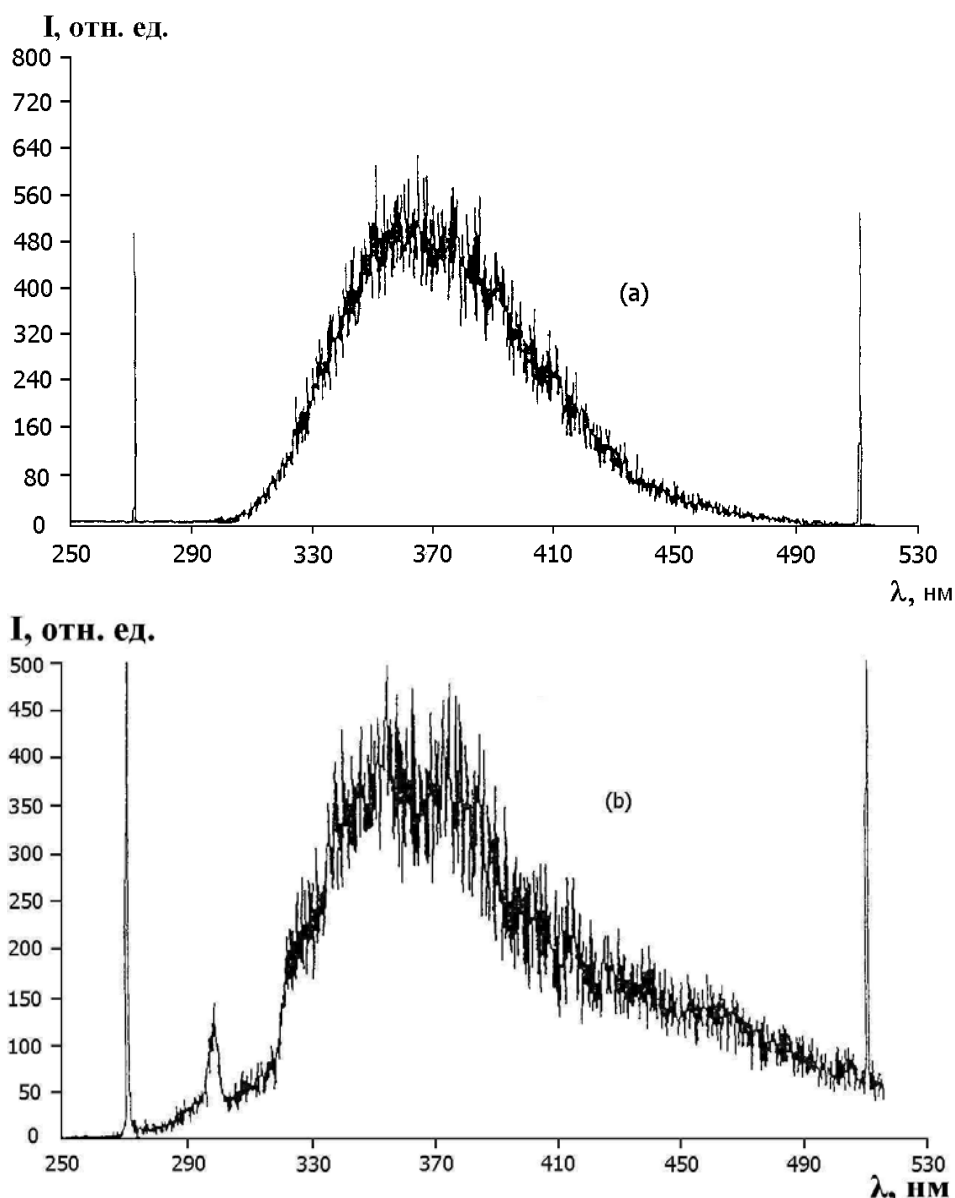


Рис. 33. Спектры ФЛ водного раствора L-триптофана (без задержки): а - концентрация 10 мг/л; б - концентрация 10 мкг/л.

При большой концентрации (рис. 33,а) спектр флуоресценции оказывается бесструктурным; при уменьшении концентрации до 10 мкг/л (рис. 33,б) обнаруживается тонкая структура в наблюдаемом спектре.

Рис. 34 иллюстрирует вид спектра флуоресценции гуанозинтрифосфата (ГТФ), полученный при возбуждении линией $\lambda=271,2$ нм без задержки ($\tau = 0$). Как видно из этого рисунка, в наблюдаемом спектре непосредственно вблизи возбуждающей линии проявляются линии резонансного КР, характерные для данного соединения, а при больших длинах волн – полоса флуоресценции с максимумом в области 300 нм.

Следует отметить, что, как видно из сравнения рис. 33 и 34, максимум в спектре флуоресценции ГТФ сдвинут в коротковолновую область по отношению к максимуму L-триптофана.

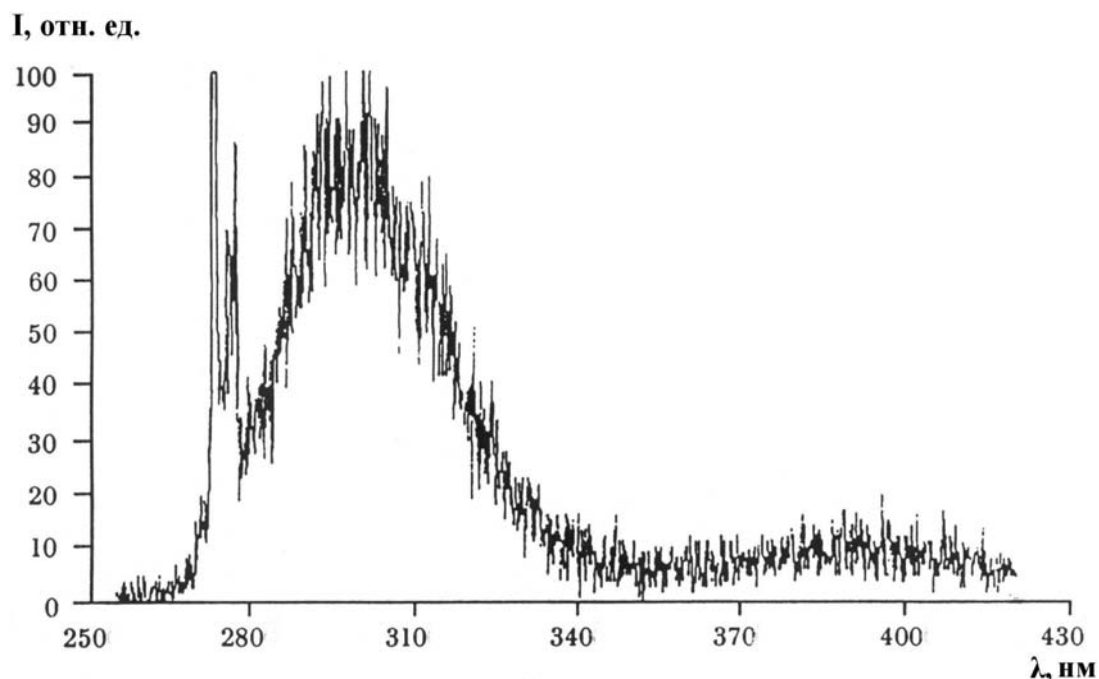


Рис. 34. Спектры резонансного КР и флуоресценции ГТФ. Возбуждающая – $\lambda=271,2$ нм (слева); КР – резкие пики вблизи возбуждающей линии; широкая полоса в области 300 нм – флуоресценция.

В качестве одного из объектов исследования была выбрана бактерия «*Bacillus thuringiensis*», находящаяся в споровом состоянии в физиологическом (0,9 %) водном растворе. Концентрация микроорганизмов изменялась в диапазоне $10 - 10^6$ мл⁻¹. Рис. 35 и 36 иллюстрируют вид спектров флуоресценции водной взвеси такой бактерии для концентрации 10^3 мл⁻¹. При этом спектр, представленный на рис. 35, соответствует бактерии *in vivo*, а спектр на рис. 36 – бактерии, предварительно подвергнутой облучению жестким ультрафиолетом (ксеноновой лампой) в течение 30 минут. Как видно из сравнения рис. 35 и 36, в результате облучения бактерий жестким ультрафиолетом происходит существенное изменение вида спектра

флуоресценции. При этом максимум спектра перемещается в длинноволновую область до 450 нм.

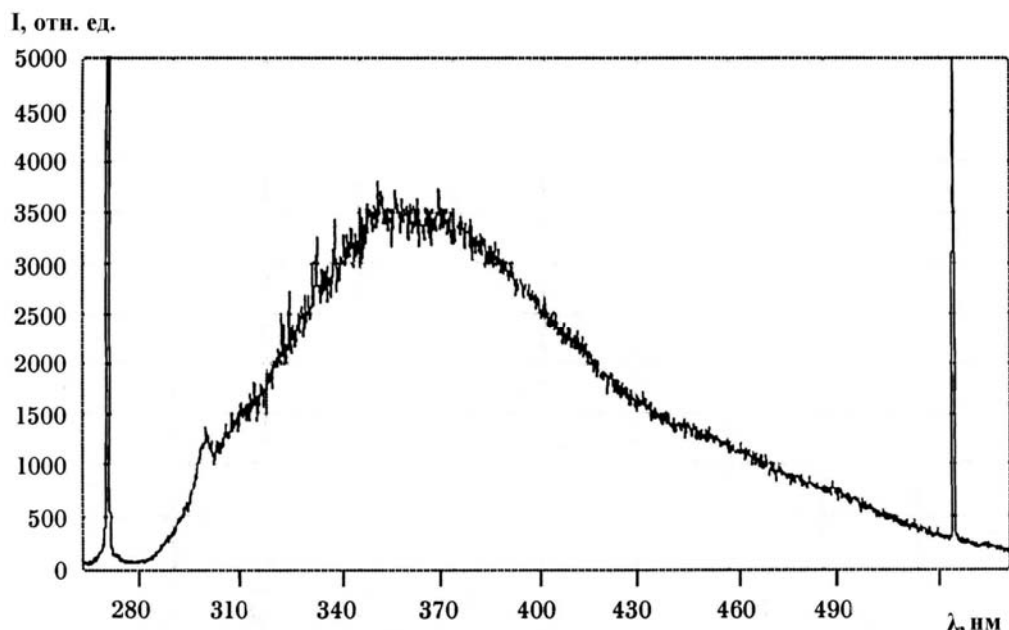


Рис. 35. Спектр флуоресценции бактерии «*Bacillus thuringiensis*» *in vivo* при концентрации 10^3 мл^{-1} .

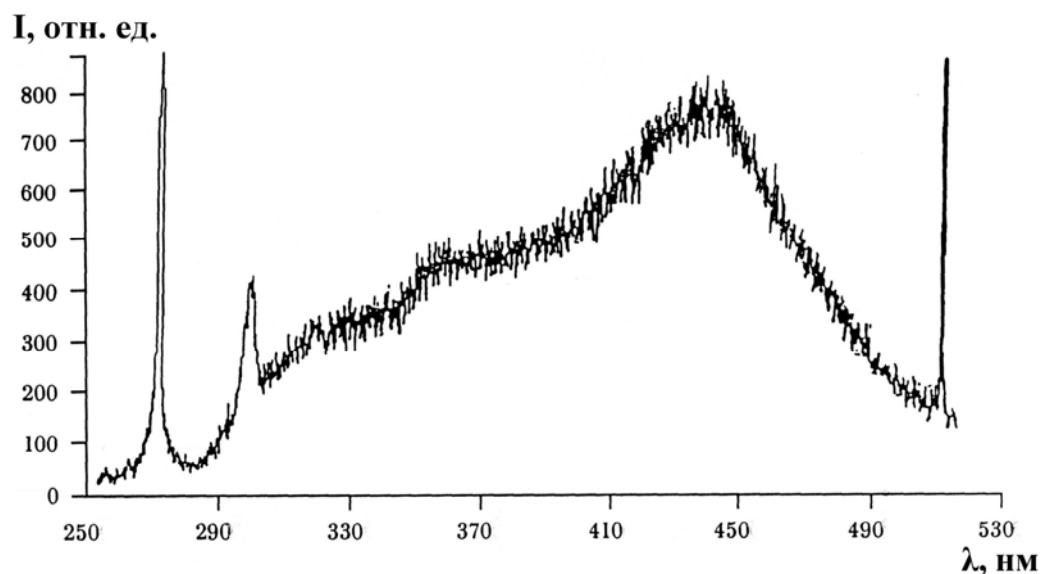


Рис. 36. Спектр флуоресценции бактерии «*Bacillus thuringiensis*», подвергнутой воздействию жесткого ультрафиолетового облучения в течение 30 мин. Концентрация бактерий в водной взвеси – 10^3 мл^{-1} .

Такой эффект можно объяснить деструкцией микроорганизмов, при которой длинные цепи белков и ДНК превращаются в короткие цепочки полипептидов.

Рис. 37 иллюстрирует изменение вида спектра флуоресценции микроорганизма «*Bacillus thuringiensis*» при переходе от синхронной с импульсом возбуждения ($\tau = 0$) регистрации (рис. 37,a) к регистрации с задержкой $\tau = 50$ нс (рис. 37,b). Как видно, при использовании задержки спектр флуоресценции приобретает ряд характерных максимумов, что может быть использовано для идентификации типа анализируемого микроорганизма.

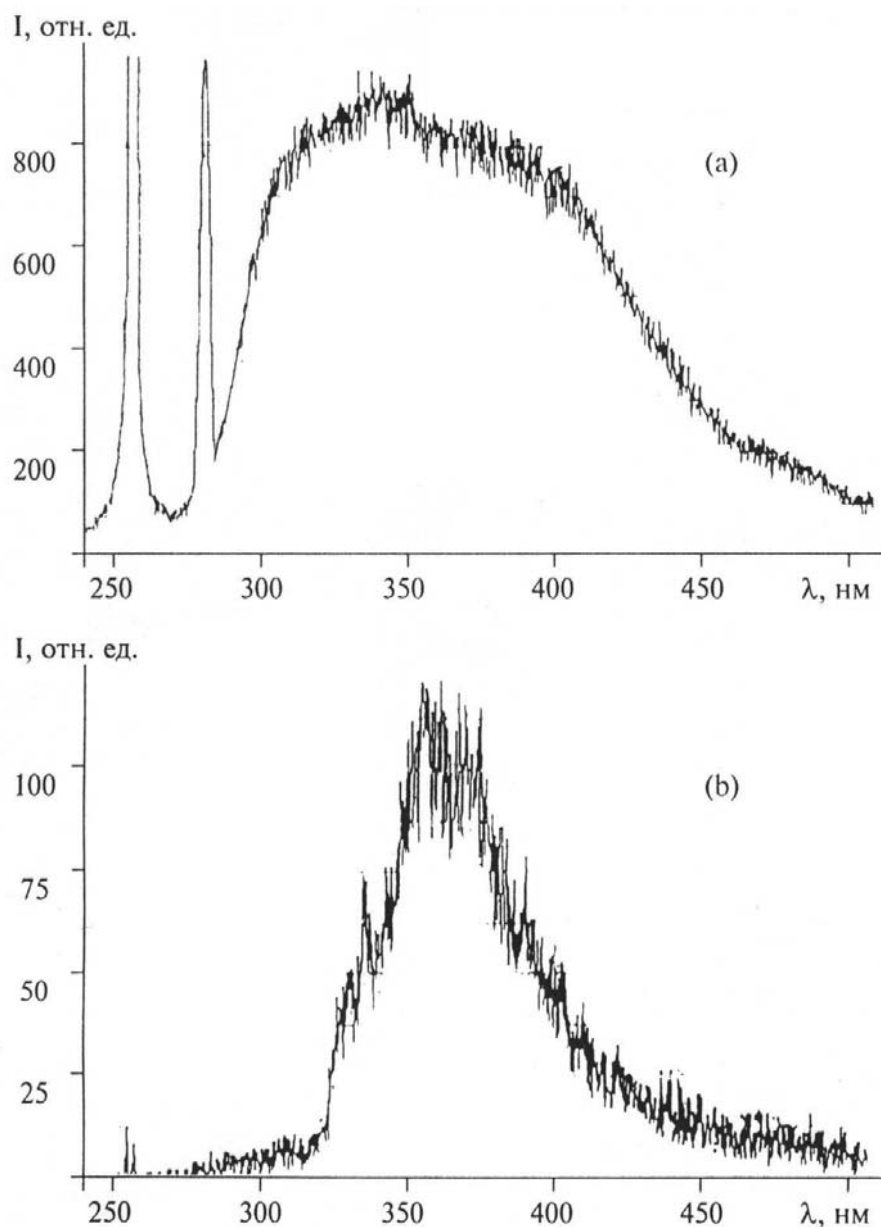


Рис. 37. Спектры флуоресценции микроорганизма «*Bacillus thuringiensis*» при концентрации 10^5 мл⁻¹ в воде: а – при нулевой задержке ($\tau = 0$); б – с задержкой $\tau = 50$ нс.

Рис. 38 и 39 иллюстрируют спектры флуоресценции водной взвеси другого микроорганизма: бактерии «*Bacillus subtilis*» при концентрации 10^2 мл⁻¹. Рис. 39 соответствует взвеси бактерий, предварительно кипятившейся в течение 20 мин. Как видно из наблюдаемых спектров, кипячение приводит к частичной деструкции микроорганизмов, что проявляется в сдвиге максимума полосы флуоресценции микроорганизмов в длинноволновую область.

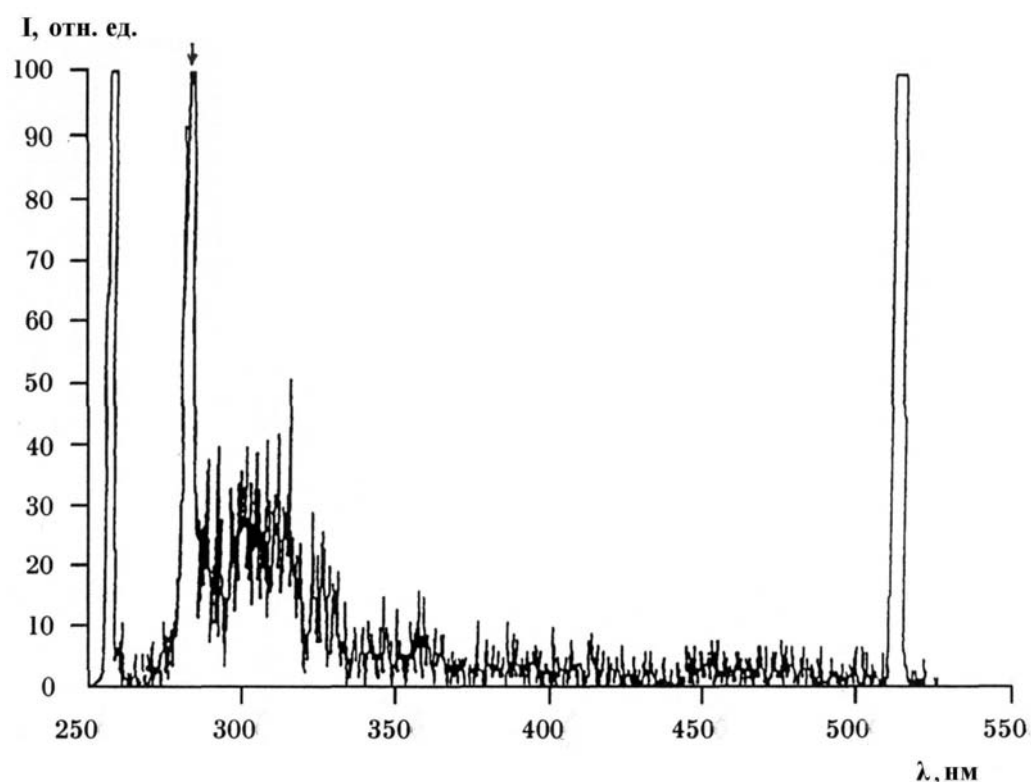


Рис. 38. Спектр флуоресценции водной взвеси бактерий «*Bacillus subtilis*» при концентрации 10^2 мл⁻¹ (*in vivo*). Линия возбуждения – $\lambda=255,3$ нм. Стрелка соответствует линии КР в воде.

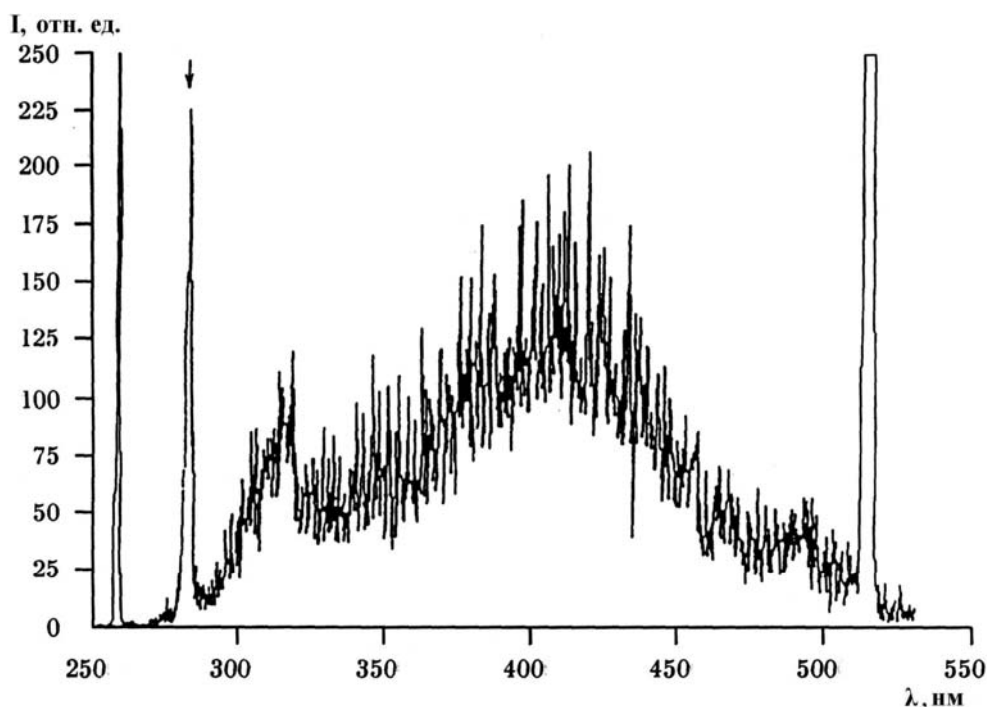


Рис. 39. Спектр флуоресценции водной взвеси бактерий «*Bacillus subtilis*» при концентрации 10^2 мл⁻¹, подвергнутой кипячению в течение 30 мин.; линия возбуждения – $\lambda=255,3$ нм. Стрелка соответствует линии КР в воде.

Заключение.

Таким образом, нами разработана методика молекулярного анализа водных сред, основанная на использовании следующих элементов.

1. В качестве источников возбуждающего излучения применены высокоэффективные полупроводниковые светодиоды непрерывного действия, излучающие в ближнем ультрафиолетовом и видимом диапазонах, а также импульсно-периодический лазер на парах меди, генерирующий излучение в ультрафиолетовой и видимой областях спектра.

2. Использованы волоконно-оптические средства для подведения возбуждающего излучения к образцу и сбора вторичного излучения к спектрометру. В частности, реализован многожильный световодный зонд, обеспечивающий возможность контактного и дистанционного анализа молекулярной среды.

3. Показано, что в резонаторных капиллярных кюветах возможно распознавание типа молекулярного соединения,

присутствующего в водной среде, по его спектру фотолюминесценции. Установлено, что с применением капиллярной кюветы возможно получение спектров фотолюминесценции слабоконцентрированных (до 10^{-7} г/л) водных растворов молекул органических красителей, в частности, Rhodamine 6G.

4. Показано, что с приближением длины волны возбуждающего излучения к полосе поглощения, наблюдается возрастание интенсивности вторичного излучения ароматического соединения, присутствующего в воде.

Данная работа открывает возможность для создания базы данных спектров фотолюминесценции различных молекулярных структур, находящихся в капиллярных кюветах. Наличие такой базы может существенно расширить возможности практического применения результатов, представленных в данной работе.

Разработанная методика импульсного ультрафиолетового возбуждения вторичного излучения воды, водных растворов и взвесей позволяет проводить анализ молекулярной структуры воды и посторонних компонентов, присутствующих в водной среде. Порог чувствительности анализа для ароматических соединений составил 1 нг/л. Это существенно ниже порога ПДК содержания типовых ароматических соединений в воде и позволяет идентифицировать следы особо опасных токсических веществ типа бензпирена, диоксина, цианида калия и других. Применение метода задержки регистрации вторичного излучения позволило отделить сигнал флуоресценции от сигнала КР, синхронного с импульсом возбуждения. Анализ вида спектров КР воды в низкочастотной области позволил оценить степень структурирования воды, связанную с ее вкусовыми качествами и эффективностью усвоения организмами. Разработанная методика позволяет также установить присутствие в воде тяжелой воды, вредной для организма. Показано, что развитая методика дает возможность осуществлять детекцию микроорганизмов в воде с порогом чувствительности 10 мл^{-1} . Из вида спектров флуоресценции микроорганизмов, расположенных в ультрафиолетовой области, устанавливается тип микроорганизма, его концентрация в водной взвеси, а также степень деструкции

под действием различных возмущающих факторов: жесткого ультрафиолетового излучения, нагревания и т. д.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 06-02-81024-Бел_а, 07-02-00106 и 07-02-12027).

Литература.

1. В.С. Горелик, П.П. Свербиль. Ультрафиолетовая лазерная спектроскопия воды. В книге «Оптическая спектроскопия и стандарты частоты. Молекулярная спектроскопия». Коллективная монография. /Под ред. Л.Н. Синицы, Е.А. Виноградова. – Томск, Изд-во Института оптики атмосферы СО РАН, 2004, с. 85-100.
2. V.S. Gorelik, J. of Russian Laser Research, **20**, 152 (1999).
3. Комбинационное рассеяние - 70 лет исследований. /Под ред. В.С. Горелика, ФИАН, М., 1998, с.18.
4. В. С. Горелик, П. П. Свербиль, А. Б. Фадюшин, В. В. Васильев. Полупроводниковый лазер видимого диапазона как источник возбуждения комбинационного рассеяния света. Препринт ФИАН №27, 18 с. М. 2003.
5. Э. Л. Портнов. Оптические кабели связи и пассивные компоненты волоконно-оптических линий связи: Учеб. пособие – М.: Горячая линия - Телеком, 2007. 468 с.
6. Р. Смит. Полупроводники. /Пер. с англ. М.: Мир, 1982. 558 с.
7. Полупроводниковые приборы. Справочник. М.: Энергоатомиздат, 1985. 143с.
8. Р. К. Narayanasvamy. Proc. Indian Acad. Sci. **27A**, 3 (1948).
9. G. Bolla. Nuovo Cimento, **9**, 290 (1932).
10. G. E. Walfaren. J. of Chem. Phys., **40**, 3249 (1964).
11. M. Maget. Annal. Phys. (Paris), **6**, 109 (1936).
12. Г. И. Зацепина. Физические свойства и структура воды. Москва, Изд-во МГУ, 1987.