



**ФИЗИКА И ТЕХНИКА
СПЕКТРАЛЬНОГО АНАЛИЗА**

(БИБЛИОТЕКА ИНЖЕНЕРА)

*Серия выпускается
под общим руководством
Комиссии по спектроскопии
АН СССР*

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО
ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ
МОСКВА 1961

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ

ПОД РЕДАКЦИЕЙ
М. А. КОНСТАНТИНОВОЙ-ШЛЕЗИНГЕР

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ИЗДАТЕЛЬСТВО
ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ
МОСКВА 1961

АННОТАЦИЯ

В книге дается систематическое описание методов люминесцентного анализа и их применения в различных областях народного хозяйства. Описанию использования люминесцентного анализа предпосылаются главы, знакомящие с явлением люминесценции и с основными закономерностями фотолюминесценции растворов. Особое внимание обращено на методику количественных оценок люминесценции и на аппаратуру.

В приложении приведен обширный справочный материал, который может быть полезен как научным работникам, так и практикам, имеющим дело с люминесценцией.

В составлении книги участвовали высококвалифицированные специалисты, из которых каждый излагает вопросы, над которыми сам работал.

Книга предвзначается для специалистов, работающих в разнообразных областях практики и имеющих разную общетеоретическую подготовку; книга представит интерес и для студентов, которые пожелают творчески подойти к использованию люминесцентного анализа в своей специальности.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	9
Глава I. Введение. Некоторые необходимые элементарные сведения . . .	13
Глава II. Определение понятия люминесценции. Основные закономерности, характерные для фотолюминесценции растворов	26
1. Понятие люминесценции	26
2. Правило Стокса	27
3. Правило зеркальной симметрии	28
4. Выход люминесценции. Закон Вавилова	29
5. Тушение люминесценции	31
Глава III. Факторы, влияющие на флуоресценцию вещества в растворе, и условия использования флуоресценции веществ для аналитических целей	36
1. Влияние концентрации водородных ионов	36
2. Влияние растворителя на флуоресценцию растворенного вещества	41
3. Изменение флуоресценции вещества при его переходе в раствор	45
4. Влияние концентрации и степени дисперсности	48
Глава IV. Люминесценция веществ и их химическая структура	51
Глава V. Систематизация методов люминесцентного анализа	59
1. Прием I. Наблюдение собственной люминесценции	60
2. Прием II. Качественные флуоресцентные реакции	66
3. Прием III. Количественный люминесцентный анализ	69
4. Прием V. Наблюдение вторичной, т. е. извне принесенной, флуоресценции	72
5. Прием VI. Люминесцентная микроскопия	74
6. Прием VII. Применение люминесцентных экранов и кристаллофосфоров	75
Глава VI. Физические основы измерений люминесценции	78
1. Поглощение возбуждающего света	78
2. Выход люминесценции	79
3. Факторы, влияющие на яркость люминесценции	80
4. Приемники излучения	82
5. Измерения интенсивности люминесценции	86
6. Относительное расположение источника возбуждения, люминесцирующего объекта и фотометра	87
7. Некоторые примеры	88
Глава VII. Источники возбуждения; измерения люминесценции; аппаратура	91
А. Источники возбуждения	91
1. Выбор источника. Светофильтры	91
2. Лампы накаливания	96
3. Газоразрядные источники	98
4. Катодное возбуждение	106

<i>Б. Измерения люминесценции</i>	108
1. Визуальные и фотоэлектрические измерения	108
2. Фотоэлементы и фотоэлектронные умножители	109
3. Спектральные измерения	113
4. Измерения послесвечения	114
<i>В. Аппаратура</i>	115
1. Некоторые приборы специального назначения (выпускаемые промышленностью)	115
2. Некоторые лабораторные установки	116
а) Фотометр Аленцева	117
б) Люминометр РП-3	119
в) Люминометр КФА-2	120
г) Применение осветителя Вуда для люминесцентного анализа растворов	120
Глава VIII. Флуоресцентные индикаторы	124
1. Возможности и условия применения флуоресцентных индикаторов	124
2. Индикаторы для растворов разного цвета	127
3. Окислительно-восстановительные индикаторы	129
4. Флуоресцентные адсорбционные индикаторы	129
Глава IX. Хемилюминесценция и ее использование в люминесцентном анализе	137
1. Хемилюминесценция	137
2. Хемилюминесцентные аналитические реакции	138
3. Хемилюминесцентные индикаторы	140
Глава X. Применение люминесцентных веществ для регистрации ядерных излучений	145
1. Возбуждение люминесценции жесткой радиацией	145
2. Кристаллофосфоры на основе ZnS	146
3. Щелочно-галогидные кристаллы	146
4. Органические кристаллы	147
5. Жидкие растворы органических веществ	147
6/ Пластмассовые сцинтилляторы	148
Глава XI. Использование в люминесцентном анализе катодолюминесценции, рентгенолюминесценции и рентгеновской флуоресценции	149
1. Катодолюминесценция	149
2. Применение катодолюминесценции в люминесцентном анализе	151
3. Рентгенолюминесценция	156
4. Рентгеновская флуоресценция	156
Глава XII. Люминесцентный анализ в химии	158
<i>А. Люминесцентный анализ в неорганической химии</i>	158
1. Прием I	158
а) Редкоземельные элементы (р. з. э.)	158
б) Уран и другие элементы	163
в) Твердые кристаллические системы	164
2. Приемы II и III	165
а) Первая группа периодической системы элементов Менделеева	165
б) Вторая группа	167
в) Третья группа	170
г) Четвертая группа	176
д) Пятая группа	177
е) Шестая группа	177
ж) Седьмая группа	180
з) Восьмая группа	181

3. Приемы II и III с использованием бумажной хроматографии	181
4. Табличные данные	181
<i>Б. Люминесцентный анализ в биологии, биохимии и органической химии</i>	<i>198</i>
1. Биологически важные вещества	198
а) Канцерогенные вещества	198
б) Эстрогенные вещества	199
в) Антибиотики	201
г) Витамины	202
д) Порфирины	207
е) Адреналин	208
2. Отравляющие вещества в воздухе	210
3. Описание отдельных реакций	211
Г л а в а XIII. Люминесцентный анализ в сельском хозяйстве	223
1. Диагностика порчи фруктов, овощей и картофеля	223
2. Вирусные заболевания	224
3. Оценка качества и обнаружение дефектов пищевых продуктов	226
4. Оценка качества и распознавание видов муки	227
5. Распознавание видов и сортов семян	230
6. Определение жизнеспособности семян	231
7. Диагностика зараженности семян яровой пшеницы пыльной головней и желтой ржавчиной	235
8. Применение люминесцентного анализа в селекционной работе	236
9. Другие применения люминесцентного анализа	237
Г л а в а XIV. Люминесцентный анализ в технике	241
<i>А. Люминесцентный анализ в металлургии и машиностроении</i>	<i>241</i>
1. Люминесцентная дефектоскопия поверхностных дефектов	241
2. Люминесцентная дефектоскопия керамических изделий	250
3. Обнаружение течи	251
<i>Б. Люминесцентный анализ в резиновой промышленности</i>	<i>251</i>
1. Некоторые сведения о резине	251
2. Люминесценция компонентов резиновых смесей	253
3. Примеры применения сортового люминесцентного анализа	257
4. Использование оценок яркости люминесценции	258
5. Задачи, разрешаемые методами люминесцентного анализа	262
<i>В. Люминесцентный метод в применении к маслам в энергетике и химической промышленности</i>	<i>263</i>
1. Определение нефтяных и каменноугольных масел в водах	264
2. Определение содержания нефтяных масел в промышленных растворах аммиачной селитры, азотной кислоты и аммиака	271
3. Определение содержания нефтяных масел в жидком кислороде	272
<i>Г. Люминесцентный анализ в текстильной и бумажной промышленности</i>	<i>272</i>
<i>Д. Люминесцентный анализ в других областях техники</i>	<i>273</i>
1. Спектрально-люминесцентный метод определения содержания хрома в синтетических рубинах	273
2. Сортировка стекол и определение корунда в наждаке	274
Г л а в а XV. Люминесцентный анализ при исследовании богатств недр Земли	280
1. Нефть и битумы	280
2. Угли и кокс	285
3. Минералы	286

Глава XVI. Использование люминесцентного анализа в биологии и медицине	292
1. Применение люминесцентных веществ	292
2. Наблюдение собственной (первичной) люминесценции	295
3. Химический люминесцентный анализ	296
Глава XVII. Люминесцентный анализ в фармации	303
Глава XVIII. Люминесцентная микроскопия в биологии и медицине	309
1. Аппаратура	310
2. Использование собственной люминесценции объектов	312
3. Флуорохромы и флуорохромирование	312
4. Люминесцентная микроскопия в цитологии и гистологии. Прижизненное флуорохромирование	314
5. Люминесцентная микроскопия в иммунохимии	317
6. Люминесцентная микроскопия в вирусологии и микробиологии	318
7. Люминесцентная микроскопия в медицине	320
Глава XIX. Люминесцентный анализ в судебной медицине, судебной химии и криминалистике	325
Глава XX. Поляризация люминесценции и возможности ее применения в люминесцентном анализе	332
1. Поляризация люминесценции	332
2. Методы измерения поляризации люминесценции	334
3. Использование метода предельной поляризации	337
4. Поляризация флуоресценции частично ориентированных молекул	342
5. Исследование структуры и свойств кристаллов методами поляризованной люминесценции	343
6. Поляризационные спектры и возможности их применения	344
Приложения:	
I. Флуоресценция соединений жирного ряда и некоторых циклических неароматического ряда	351
II. Флуоресценция соединений ароматического ряда, полиенов и гетероциклических соединений	358
III. Главнейшие флуорохромы для люминесцентной микроскопии	371
IV. Прописи применения флуорохромов в микроскопической практике	382
V. Люмогены (флуоресцентные вещества, отличающиеся большой яркостью и устойчивостью)	385
VI. Люминесцентные красители (табл. А) и углеводороды (табл. Б), не значащиеся в списках флуорохромов (приложение III) и люмогенов (приложение V)	387
VII. Введение в начальный практикум	393
Предметный указатель	397

Посвящается светлой памяти

СЕРГЕЯ ИВАНОВИЧА ВАВИЛОВА

ПРЕДИСЛОВИЕ

В 1948 г. по инициативе академика С. И. Вавилова была издана моя книга «Люминесцентный анализ». Задачей этой книги было не только ознакомить читателей с применениями люминесцентного анализа, но и систематизировать используемые методы, уточнить степень их достоверности, иными словами, создать пособие, где каждая из многочисленных работ по люминесцентному анализу нашла бы свое место по признаку используемого метода, независимо от того, кем осуществляется анализ — клиницистом, геологом или техником. При составлении мною настоящей книги преследовались те же цели; общий план, систематизация методов — объединение их в типы — «приемы» — остались в основном прежними; как и раньше, люминесцентный анализ подразделяется на химический, задача которого обнаруживать индивидуальные химические компоненты и определять их содержание, и «сортовой» (иначе «групповой»), не затрагивающий вопросов химии.

За истекшие годы круг вопросов, разрешаемых методами люминесцентного анализа, значительно расширился и модернизировался; при выполнении анализов используют современную аппаратуру; требования, предъявляемые к люминесцентному анализу, утратили примитивный характер. Возникла необходимость ввести новые главы. По-прежнему характерная особенность люминесцентного анализа состоит в том, что применения его чрезвычайно разнообразны, но ни в одной области он не является основным методом; им пользуются для исследования отдельных вопросов, которые в ряде случаев могут быть разрешены только этим путем. Этой своеобразной особенностью люминесцентного анализа объясняется несколько необычный характер данного пособия. Главы и разделы в нем рассчитаны на читателей с различной подготовкой. В ряде случаев сначала даются общие представления, и только после этого материал излагается более детализированно. При современном уровне работ по люминесцентному анализу читатель вправе требовать от пособия, чтобы оно не только знакомило с применениями люминесцентного анализа, но и отражало специфику его использования в различных областях, а также

чтобы в нем были освещены некоторые принципиальные вопросы. Именно поэтому представлялось целесообразным, чтобы отдельные разделы были написаны соответствующими специалистами, использующими люминесцентный анализ в своей повседневной работе. В написании книги приняли участие 19 авторов.

В соответствии с назначением книги отдельные главы и разделы несут самостоятельный характер и рассчитаны на то, чтобы читатель, сосредоточив внимание на главах, имеющих отношение к разрешению стоящих перед ним задач, без ущерба для их понимания мог не вникать в содержание некоторых других глав. Неизбежные при этом повторения сведены до минимума и оставлены только там, где они не устранимы без ущерба для стройности изложения, или где они полезны в целях облегчения понимания неподготовленным читателем.

При подборе сообщаемых общетеоретических и практических данных мы имели в виду интересы и тех читателей, которые захотят творчески подойти к использованию люминесцентного анализа; рекомендуем их вниманию главы V, VI и VII, а также приложения.

В первых четырех главах читатель знакомится с явлением люминесценции и с характерными для него закономерностями; кроме того, в гл. I приводятся некоторые элементарные сведения, которые необходимо вспомнить, приступая к чтению литературы и к работе по люминесцентному анализу. Глава V посвящена систематизации методов люминесцентного анализа. Главы VI и VII помогут читателю в выборе схемы установки и метода оптических измерений, а также в выборе осветителей и аппаратуры, которые наиболее отвечают поставленной задаче. Сведения и рекомендации, приведенные в главе VI, позволят избежать досадных «погрешностей» при проведении количественного люминесцентного анализа. В остальных главах, как это ясно из оглавления, рассматриваются методы и применения люминесцентного анализа в различных областях практики.

В самый конец книги, в гл. XX, отнесена поляризация люминесценции и ее использование в люминесцентном анализе. Это сделано в связи с несколько отличным характером этой главы, обусловленным сложностью рассматриваемых вопросов.

Отдельные главы, разделы и параграфы написаны следующими авторами: в гл. II раздел «Тушение люминесценции» (стр. 31—35) — М. Д. Галаниным, в гл. V о новом методе количественного определения хрома (стр. 72) — П. П. Феофиловым, гл. VI «Физические основы измерений люминесценции» — М. Н. Аленцевым, гл. VII «Источники возбуждения; измерения люминесценции; аппаратура» (стр. 91—117) — М. И. Эпштейном, последний параграф гл. VII — описание лабораторных установок — М. Н. Аленцевым (стр. 117—119, 120—122), М. М. Юдилевичем (стр. 119—120), В. Д. Зайцевой и В. Н. Проворовым (стр. 120). Большая часть главы VIII (стр. 127—130), а также весь раздел хемилюминесцентных

индикаторов (стр. 140—144) в гл. IX написаны Г. Н. Кошелевой. Глава X «Применение люминесцентных веществ для регистрации ядерных излучений» составлена М. Д. Галаниным, гл. XI «Использование в люминесцентном анализе катодолюминесценции, рентгенолюминесценции и рентгеновской флуоресценции» — А. В. Москвиным; в гл. XII «Люминесцентный анализ в химии» раздел А, 2 (стр. 165—178) написан Е. А. Божевольновым. Ему же принадлежат таблицы реагентов и реакций (стр. 181—197). Гл. XIII «Люминесцентный анализ в сельском хозяйстве» написана в основном (стр. 224—240) З. И. Каневской.

В составлении гл. XIV «Люминесцентный анализ в технике» участвовал ряд авторов: раздел А, посвященный применению люминесцентного анализа в металлургии и машиностроении (стр. 242—251), написан А. В. Карякиным, раздел В — применение люминесцентного анализа в резиновой промышленности (стр. 251—263) — В. Д. Зайцевой и В. Н. Проворовым, раздел В «Люминесцентный метод в применении к маслам в энергетике и химической промышленности» (стр. 263—272) — М. М. Юдилевичем, параграф «Спектрально-люминесцентный метод определения содержания хрома в синтетических рубинах» (стр. 273—274) — П. П. Феофиловым. В главе XV раздел 2 «Угли и кокс» (стр. 285—286) написан М. М. Юдилевичем, а о люминесценции алмазов (стр. 289—290) — З. Л. Моргенштерн.

Глава XVIII «Люминесцентная микроскопия в биологии и медицине» составлена М. Н. Мейселем и А. В. Гуткиной, гл. XIX «Люминесцентный анализ в судебной медицине, судебной химии и криминалистике» — В. Н. Виноградовым, гл. XX «Поляризация люминесценции и возможность ее применения в люминесцентном анализе» — Н. Д. Жевандровым.

В приложении II спектры органических веществ, исследовавшихся в качестве сцинтилляторов, подобраны А. Н. Никитиной.

Приложение III составлено М. Н. Мейселем и А. В. Гуткиной.

В приложении VII задания 3 и 4 составлены Г. Н. Кошелевой, 5—7 — Е. А. Божевольновым.

При составлении данного коллективного труда учтены пожелания и указания, высказывавшиеся читателями моей книги «Люминесцентный анализ» (1948 г., Издательство Академии наук СССР, М.—Л.), материалы которой мною частично использованы. В этой связи мне хочется выразить мою признательность М. Н. Аленцеву и В. К. Матвееву, взявшим на себя труд отметить недочеты той книги. Благодарю соавторов за согласие принять участие в составлении настоящего пособия. Особую благодарность приношу М. Д. Галанину за просмотр некоторых глав и за ценные советы по ряду разделов.

Благодарю кандидата медицинских наук В. И. Алиеву за просмотр гл. XVI, директора Центральной контрольно-семенной лаборатории МСХСС В. Я. Лобанова за просмотр гл. XIII, а также выражаю благодарность Н. А. Горбачевой за тщательный просмотр некоторых глав

и Ю. С. Леонову и В. В. Осико за оказанную мне помощь при оформлении рукописи книги.

За истекшие 10 лет люминесцентный анализ в нашей стране претерпел значительную эволюцию, в применении его достигнуты большие успехи. Об этом говорит не только содержание книги, но и самая возможность привлечения такого большого числа авторов — практиков различных специальностей. Этими успехами мы обязаны прежде всего основоположнику люминесцентного анализа у нас — академику С. И. Вавилову. Его светлой памяти и посвящается этот труд.

Декабрь 1959 г.

М. А. Константинова-Шлезингер



ОСНОВОПОЛОЖНИК ЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА В СССР
С. И. ВАВИЛОВ (1891—1951)

ГЛАВА I

ВВЕДЕНИЕ. НЕКОТОРЫЕ НЕОБХОДИМЫЕ ЭЛЕМЕНТАРНЫЕ СВЕДЕНИЯ

Со словами «солнечный свет» мы обычно связываем представление о ярком свете ясного летнего дня и нередко забываем, что спектр солнечного света не обрывается там, где мы перестаем его видеть: за фиолетовым концом спектра следуют невидимые ультрафиолетовые лучи.

Солнечный свет богат этими лучами, и если мы, обитатели Земли, почти не ощущаем их, то только потому, что наша планета защищена оболочкой атмосферы. Из отдельных компонентов атмосферы большую роль в этом отношении играет газ озон.

Содержание озона в воздухе чрезвычайно мало: если весь озон, рассеянный в атмосфере, собрать в один сплошной слой, то толщина этого слоя (при давлении 760 мм Hg и 0°) оказалась бы равной всего 3 мм. Тем не менее озон, несмотря на столь малое его содержание в атмосфере, защищает Землю от ультрафиолетовых лучей, так как обладает исключительно большой абсорбционной способностью.

Озон поглощает в интервале длин волн 200—320 мкм. Максимум поглощения озона лежит при длине волны 255 мкм. Как сильно поглощает озон, видно из следующего: чтобы вдвое ослабить интенсивность солнечного излучения в области максимального поглощения озона, достаточно слоя его в газообразном состоянии толщиной лишь в тысячные доли миллиметра.

Когда путешественник взбирается на высокую гору, он оставляет ниже себя самый плотный слой атмосферы. Чем выше он поднимается, тем слой атмосферы становится все менее плотным и тем самым ослабляется его защитное действие— ультрафиолетовые лучи начинают напоминать о себе ожогами кожи. Озон играет роль светофильтра: он пропускает видимую часть спектра и задерживает или ослабляет ультрафиолетовые лучи.

Дадим на мгновение волю фантазии: представим себе, что к атмосфере, окружающей Землю, примешан воображаемый «черный газ»— такой газ, который целиком поглощал бы всю видимую часть солнечного спектра, но не ослаблял бы интенсивности тех ультрафиолетовых лучей, которые достигают нашей Земли. Если бы это случилось, наш взор был бы поражен неожиданным зрелищем. Земля погрузилась бы в полный мрак, однако среди окружающей тьмы мы увидели бы сказочный мир разнообразно светящихся предметов.

В темноте мы не смогли бы уловить контуров тела человека, но резко вырисовывались бы ослепительно белые зубы, а на концах пальцев ясно обозначались бы сине-голубые ногти. Многие минералы нам представи-

лись бы окрашенными: флюорит (плавиковый шпат) казался бы фиолетовым, кальцит — красным, ортоклаз — желтым, и т. д.; быть может, наше внимание привлек бы камень неопишуемой красоты, усеянный по коричнево-серому фону зелеными сияющими блестками уранового соединения. Мы в темноте увидели бы семена некоторых растений: кажущиеся на изломе красными зерна вики, коричневые зерна целлюшки, овсы, различающиеся по цвету в зависимости от сорта, и т. д. Мы были бы удивлены обилием цветных точек, рассеянных среди луга, — это небольшие участки на цветах многих растений, например медовые железки у основания венчика.

Листы белой бумаги в зависимости от ее сорта казались бы нам синими, фиолетовыми или были бы невидимы. Разлитая на земле нефть напоминала бы лужу грязного молока: почти черная при дневном свете, в нашем фантастическом мире нефть светилась бы желтовато-белесым цветом. Пятна керосина и некоторых минеральных масел мы приняли бы, пожалуй, за пятна синей краски различных оттенков — так ярко вырисовывались бы они в темноте благодаря своему свечению. Так окружающий мир предстал бы пред нами в новом свете; наше восприятие мира обогатилось бы познанием свойств вещества, о которых мы обычно и не подозреваем. Это новое свойство — «цвет в темноте», или, вернее, «цвет» при освещении ультрафиолетовыми лучами, мы наблюдали бы непосредственно, невооруженным глазом, в нашем воображаемом мире.

Разумеется, эта фантазия неосуществима в описанной форме, но ее легко реализовать в более скромных размерах: ограничим сферу наблюдений пространством внутри небольшого ящика; в верхней или боковой его стенке сделаем вырез так, чтобы свет извне проникал в ящик только через это отверстие; закроем его стеклом-светофильтром, т. е. таким стеклом, которое пропускает лучи лишь определенной длины волны (определенного цвета); наш светофильтр должен поглощать всю видимую часть спектра, но беспрепятственно пропускать ультрафиолетовые лучи, точнее, длинноволновую их часть, примыкающую к видимой части спектра. Очевидно, в ящике будет темно, — ведь в него проникают только невидимые ультрафиолетовые лучи, — тем не менее, если мы в него поместим нефть, керосин, бумагу некоторых сортов и др., все эти предметы и вещества окажутся ярко светящимися, как бы окрашенными в синий, фиолетовый и иные цвета.

Так мы легко сможем реализовать нашу фантазию и, создав эти искусственные условия наблюдения, по-новому выявим многообразие окружающего нас мира.

Описанное здесь явление — собственное свечение веществ при их освещении невидимым ультрафиолетовым светом — называют люминесценцией.

Люминесцентное *) свечение уже издавна привлекало внимание исследователей, а за последние десятилетия им стали интересоваться и практики: началось массовое увлечение наблюдениями люминесценции в целях разрешения разнообразных практических вопросов. В отдельных случаях

*) От латинского слова *lumen* (свет, свечение). В этой книге употребляются два термина: люминесцентный и люминесцирующий. Терминология еще не установилась, деление не строгое. В трудах С. И. Вавилова термин «люминесцентный» обычно применялся в тех случаях, когда шла речь о практическом использовании («люминесцентный анализ», «люминесцентные лампы» и т. д.). Мы употребляем слово «люминесцирующий» для описания состояния наблюдаемого объекта, например: «люминесцирующий раствор». Термином «люминесцентный» выражаем принадлежность к определенному классу объектов, например: «люминесцентный индикатор».

были достигнуты хорошие результаты. Работы по использованию люминесценции для практических целей в первое время были теоретически мало обоснованы и наблюдаемое свечение мало понятно; это видно, например, из характера их описания Данквортом во втором издании его книги «Люминесцентный анализ в фильтрованном ультрафиолетовом свете» (1928). До последнего времени само явление люминесценции представляло собой так много загадочного, так неполно было изучено, что практика существенно опережала теорию. Вместе с тем отсутствие теоретического обоснования ограничивало возможности успешного использования этого мало понятного явления. Помимо этого, малая доступность соответствующей аппаратуры — светофильтров, источников света, фотометров — существенно тормозила развитие люминесцентного анализа.

В описанном выше опыте люминесцентное свечение возбуждалось солнечным светом. Однако таким источником света удобно пользоваться лишь в отдельных специальных случаях; обычно же, в условиях производственной и лабораторной работы, особенно в наших широтах, приходится прибегать к иным источникам возбуждения.

Современная техника преодолела указанные выше трудности: необходимые светофильтры («черное стекло»), кварцевые ртутные лампы и измерительные приборы различных типов стали легко доступными. В главе VII читатель найдет описание выпускаемой у нас аппаратуры.

В части теоретического выяснения природы самого явления люминесценции за последние десятилетия в результате работ советских и зарубежных исследователей также достигнуты большие успехи.

В настоящее время специалисты во всех областях народного хозяйства с успехом применяют люминесцентный анализ для разрешения задач, выдвигаемых повседневной практикой. Чтобы эффективно использовать люминесценцию для целей анализа, необходимо понимать физическую основу самого явления. Напомним читателю некоторые общеизвестные положения физики.

Длины волн световых лучей измеряются в ангстремах и миллимикронах:

Название	Символ	Значение
Микрон . . .	<i>мк</i>	$1 \text{ мк} = 10^{-3} \text{ мм}$
Миллимикрон	<i>ммк</i>	$1 \text{ ммк} = 10^{-6} \text{ мм}$
Ангстрем . . .	Å	$1 \text{ Å} = 10^{-7} \text{ мм} = 10^{-8} \text{ см}$

На рис. 1 дана классификация электромагнитных волн, частный случай которых представляет видимый свет.

Приведенная шкала длин волн показывает, что только очень небольшая часть электромагнитных колебаний непосредственно воспринимается нашим глазом: область видимых лучей охватывает интервал приблизительно от 400 до 760 *ммк*; с одной стороны к ней непосредственно примыкает длинноволновая, инфракрасная область (760—2000 *ммк*), а с другой — коротковолновая, ультрафиолетовая. В последней условно различают ближнюю ультрафиолетовую область, непосредственно примыкающую к видимой (примерно от 400 до 315 *ммк*), среднюю ультрафиолетовую (примерно от 315 до 280 *ммк*) и коротковолновую область с длиной волны меньше 280 *ммк*. Для длин волн около 185 *ммк* воздух становится мало прозрачным и начинается вакуумная ультрафиолетовая область. Переход

от одной области к другой происходит, разумеется, постепенно, и указанные границы между ними носят условный характер.

В видимой области излучение определенной длины волны (так называемый монохроматический свет) воспринимается нашим глазом как излучение определенного цвета. Различным цветам примерно соответствуют нижеследующие интервалы длин волн:

Цвет	Длины волн в мкм	Цвет	Длины волн в мкм
Фиолетовый	400—420	Желто-зеленый	550—575
Синий	420—490	Желтый	575—590
Голубой	490—500	Оранжевый	590—620
Зеленый	500—550	Красный	620—760

Обычно мы имеем дело не с монохроматическим светом, а со сложным (различных длин волн). Цветовое впечатление, создаваемое им, может оказаться таким же, как и от монохроматического света. Цвет люминесценции, как и всякого иного излучения, зависит от его спектрального состава. Для характеристики излучения испускаемый сложный свет разлагают

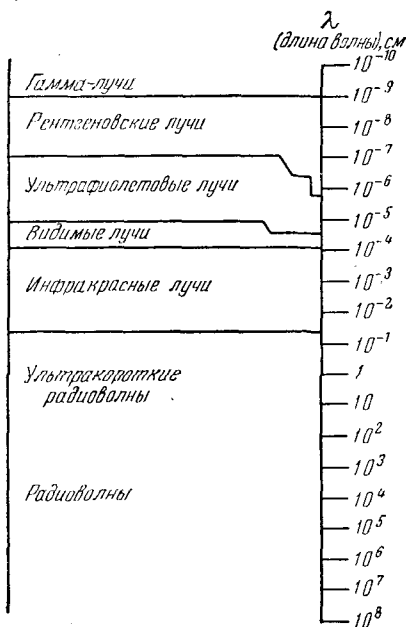


Рис. 1. Шкала электромагнитных волн.

при помощи призмы и получают соответствующий спектр (рис. 2); при более детальном описании спектров измеряют энергию, приходящуюся на каждую длину волны (точнее, на небольшой интервал длин волн). Различают спектры с непрерывным (сплошным) распределением энергии и спектры линейчатые, т. е. такие, у которых световая энергия сосредоточена только в отдельных, очень узких участках длин волн. На рис. 3 приведена фотография сплошного солнечного спектра и линейчатого спектра ртутной лампы.

Если на пути лучей от источника света к призме поместить вещество, поглощающее свет, и наблюдать спектр прошедшего света, то мы получим спектр поглощения этого вещества. Поглощение света веществом имеет, как правило, избирательный характер — свет различных длин волн поглощается неодинаково. На рис. 4 показано, как видимая глазом окраска растворов или стекол в проходящем свете связана с их поглощением. На явлении поглощения основано применение светофильтров, в частности светофильтра для люминесцентного анализа; последний часто называют вудовским стеклом (по имени выдающегося американского физика Вуда, первым его изготовившего и применившего). На рис. 5 показано, как оконное стекло и вудовский светофильтр по-разному ослабляют линии ртутного спектра. На фотографии спектра ртутной лампы, снятой с оконным стеклом, поставленным на пути ее лучей (спектр 4), видно, что линии видимой части спектра и ближнего ультрафиолета не отличаются от соответствующих линий на спектре лампы, снятом без светофильтра; линии длин волн 334 и 313 мкм хотя и видны, но заметно ослаблены, а более коротковолновые, начиная с 303 мкм, поглощены полностью.

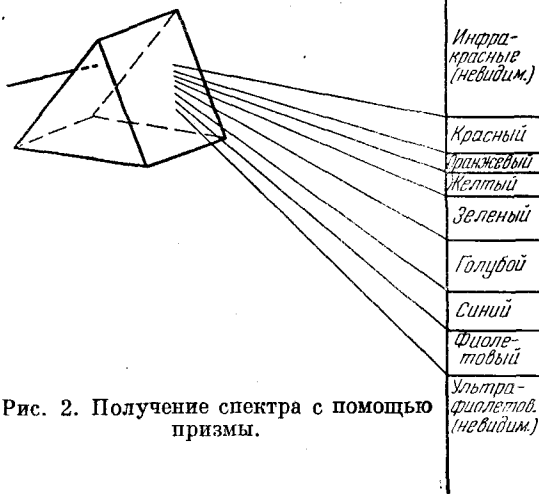


Рис. 2. Получение спектра с помощью призмы.

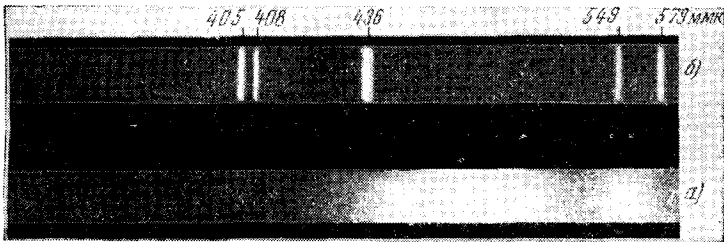


Рис. 3. Непрерывный и линейчатый спектры:
а — спектр солнца, б — спектр ртутной лампы (длины волн указаны в мкм).

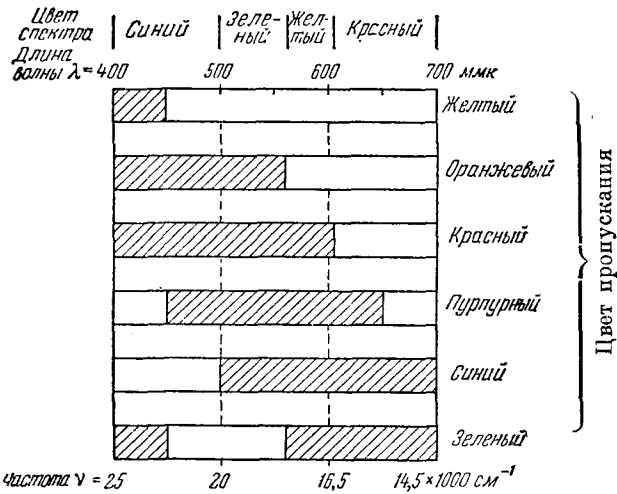


Рис. 4. Цвет и спектр поглощения.
(Заштрихована область поглощения.)

Вудовское стекло целиком поглощает линии видимой части спектра, и потому они отсутствуют на спектрах 2 и 3, снятых с этим светофильтром.

Если в пробирке, сделанной из стекла, заметно поглощающего ультрафиолетовый свет, наблюдать люминесценцию раствора, то свечение раствора окажется ослабленным или совсем не будет видно, в зависимости от того, как сильно стенки пробирки ослабляют ультрафиолетовые лучи, возбуждающие люминесценцию. Ослабление световых лучей стеклянной пластинкой, помещенной на их пути, зависит не только от сорта стекла, но и от толщины поглощающего слоя: ослабление усиливается с увеличением толщины пластинки (сравни спектры 2 и 3 на рис. 5).

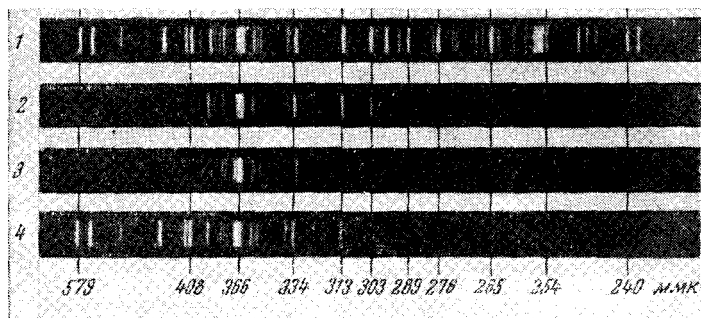


Рис. 5. 1 — спектр ртутной лампы; 2 — спектр ртутной лампы с вудовским стеклом; 3 — спектр ртутной лампы с двойным вудовским стеклом; 4 — спектр ртутной лампы с оконным стеклом.

Предположим, что на пластинку, перпендикулярно к ней, падает пучок параллельных лучей монохроматического света. Введем обозначения:

d — толщина пластинки; I_0 — интенсивность света, падающего на пластинку; I — интенсивность света, вышедшего из пластинки.

Ослабление потока при прохождении через пластинку дается отношением

$$\frac{I}{I_0} = e^{-kd},$$

где k — постоянная, характеризующая поглощающую среду; она называется показателем поглощения.

Показатель поглощения сильно изменяется с длиной волны, — на этом и основано применение светофильтров. Для характеристики светофильтров вычерчивают кривые: на оси абсцисс откладывают длины волн, а на оси ординат — соответствующие показатели поглощения или иные величины, характеризующие ослабление светофильтром светового потока соответствующей длины волны. Так, на рис. 6 даны кривые для стекла УФС2, применяемого для изготовления светофильтров. На этих кривых по оси ординат отложены оптические плотности D пластинок. Оптической плотностью называют десятичный логарифм отношения падающего потока к прошедшему:

$$\lg \frac{I_0}{I} = D = 0,4343kd = \frac{kd}{2,3}.$$

Следовательно, возрастанию оптической плотности соответствует большее ослабление (поглощение) проходящего света.

Кривые рис. 6 показывают, что в противоположность увиолевному стеклу, прозрачному не только для ближних ультрафиолетовых лучей, но и для видимой части спектра, стекло УФС2 почти не пропускает видимых лучей: его поглощательная способность меньше всего около длины волны 340 мкм и резко возрастает в сторону длинных волн, начиная примерно с 360 мкм.

Если на пути лучей вместо пластины поместить сосудик с раствором поглощающего вещества, то ослабление света при прохождении через раствор будет зависеть не только от толщины слоя d , но и от концентрации раствора. В этом случае справедливо соотношение

$$\frac{I}{I_0} = e^{-\sigma C d},$$

где σ — постоянная, характерная для растворенного поглощающего вещества; C — концентрация раствора.

Следовательно, с увеличением концентрации раствора ослабление проходящего света возрастает быстрее, чем изменяется концентрация.

Поглощение света необходимо для возникновения люминесценции; свет только тех длин волн, которые поглощаются веществом, может вызвать его люминесценцию. Поэтому знание спектра поглощения люминесцирующего вещества облегчает подбор наиболее подходящего источника возбуждения и светофильтра.

Кроме спектров излучения и поглощения люминесцирующие вещества характеризуются также в некоторых случаях поляризацией люминесценции.

В главе XX рассматриваются возможности использования в люминесцентном анализе явления поляризации люминесценции. Вспомним, что же мы называем поляризованным светом и, следовательно, поляризованной люминесценцией.

Выше было указано, что свет представляет собой электромагнитные волны. Это волны поперечные, т. е. такие, в которых колебания происходят в плоскости, перпендикулярной к направлению распространения волны (рис. 7, а). В естественном свете в этой плоскости возможны колебания любых направлений; с течением времени они быстро и хаотически меняются. В свете, который мы называем поляризованным или, точнее, линейно поляризованным, колебания происходят только в одном из этих направлений (рис. 7, б). На рис. 8, а показана поперечная механическая волна, создаваемая на эластичном шнуре рукой. Благодаря тому, что шнур пропущен через щель, колебания происходят только в одном направлении, параллельном щели, а не в любых направлениях вокруг шнура. Это выражают словами: колебания происходят в плоскости щели (рис. 8, б). Свето-

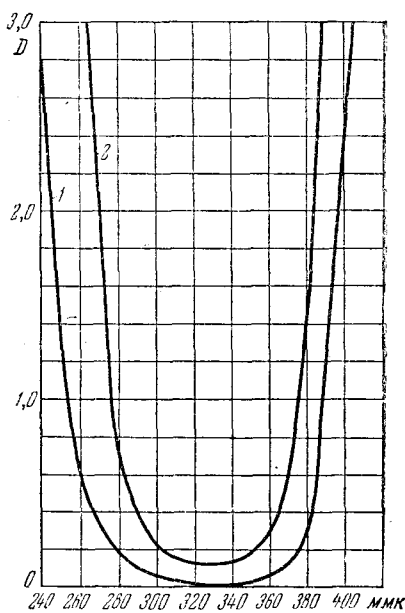


Рис. 6. Кривые оптической плотности фильтров для выделения ультрафиолетовой области спектра:

1 — стекло УФС2 толщиной 1 мм;
2 — стекло УФС2 толщиной 5 мм.

вая волна тоже может быть полностью или частично поляризованной. Поляризация света, т. е. исключение колебаний во всех направлениях, кроме одного, происходит при его отражении и преломлении. На рис. 9 показано, что у преломленного луча колебания лежат в плоскости чертежа, а у отраженного — в плоскости, перпендикулярной к плоскости чертежа. Полностью поляризованным бывает только отраженный луч и только в том случае, если угол между лучами — отраженным и преломленным — равен 90° ; при этом, как это легко показать, тангенс угла падения α равен показателю преломления n . Для получения поляризованного света пользуются специальными приборами — поляризаторами (см. гл. XX).

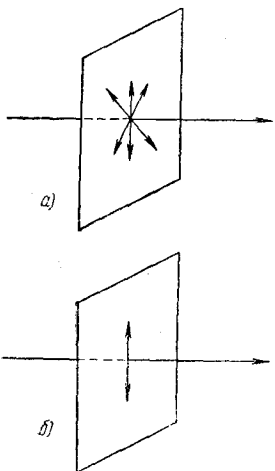


Рис. 7. Колебания в естественном свете (а) и в линейно - поляризованном (б).

Мы напомнили некоторые элементарные понятия оптики; теперь остановимся на современных представлениях о природе лучистой энергии.

Начало XX в. ознаменовалось в физике кризисом в учении о природе света. Углубленное исследование взаимодействия материи и лучистой энергии ясно выявило прерывную природу последней и показало, что представление о волновой природе света, которое до этого было общепризнанным и бесспорным, оказывается непригодным для объяснения процессов поглощения и испускания света.

Мы напомнили некоторые элементарные понятия оптики; теперь остановимся на современных представлениях о природе лучистой энергии. Начало XX в. ознаменовалось в физике кризисом в учении о природе света. Углубленное исследование взаимодействия материи и лучистой энергии ясно выявило прерывную природу последней и показало, что представление о волновой природе света, которое до этого было общепризнанным и бесспорным, оказывается непригодным для объяснения процессов поглощения и испускания света.

В диалектическом слиянии обоих представлений было найдено разрешение этого противоречия; диалектический синтез теорий о волновой и квантовой природе света лежит в основе современного учения о свете, а следовательно, и о люминесценции.

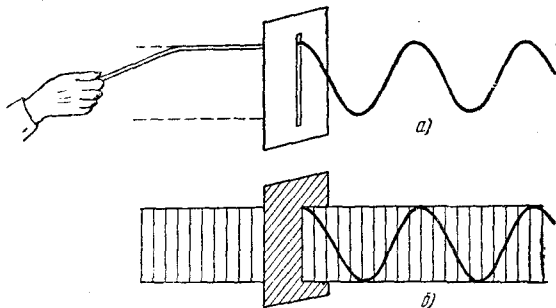


Рис. 8. Поперечная механическая волна (а) и плоскость ее колебания (б).

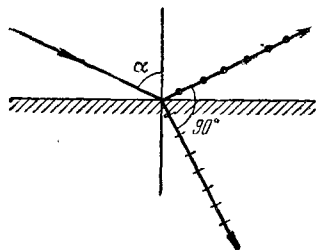


Рис. 9. Поляризация света при его отражении и преломлении.

Вещество поглощает и испускает свет отдельными порциями — к в а н т а м и. Кванты света, соответствующие лучам различной длины волны, неодинаковы по своей энергии; так, энергия квантов синего света больше, чем красного. Чем больше длина волны света, тем соответствующая энергия кванта меньше. Величина кванта ϵ определяется следующим выражением:

$$\epsilon = h\nu = \frac{hc}{\lambda},$$

где h — универсальная постоянная Планка; $\nu = \frac{c}{\lambda}$ — частота колебания света; λ — соответствующая длина волны; c — скорость света.

Приведем несколько числовых значений величин квантов различных видов излучения:

Излучение	Энергия кванта (в эргах)	Энергия кванта (в электрон-вольтах)*
Красное	$\approx 2,5 \cdot 10^{-12}$	$\approx 1,56$
Фиолетовое	$\approx 5,0 \cdot 10^{-12}$	$\approx 3,12$
Гамма-лучи (Co ⁶⁰)	$\approx 2,0 \cdot 10^{-6}$	$\approx 1,25 \cdot 10^6$

*) 1 эв = $1,602 \cdot 10^{-12}$ эрг.

Исключительно высокая химическая активность ультрафиолетовых лучей по сравнению с активностью видимого света тем отчасти и обусловливается, что при их абсорбции поглощаются кванты бóльшей энергии.

Напомним, что согласно современным представлениям о строении вещества атомы всех элементов состоят из положительно заряженных ядер и из окружающих их электронов. Радиус ядра атома составляет по порядку величины 10^{-13} см, радиус атома в целом в сотни тысяч раз больше — порядка 10^{-8} см.

Несмотря на малый объем ядра, именно в нем сосредоточена почти вся масса атома. Порядковый номер элемента в периодической системе Менделеева определяется положительным зарядом ядра, а число электронов в атоме равно заряду ядра, — иначе атом не был бы электрически нейтральным. У атома водорода (порядковый номер равен 1) 1 электрон; у атома урана (порядковый номер равен 92) 92 электрона.

До известной степени можно рассматривать атом как некоторое подобие планетарной системы: электроны окружают ядро подобно тому, как планеты окружают Солнце.

Такое сравнение удобно своей наглядностью, хотя оно по существу и не отражает природу атома.

При поглощении атомом кванта света один из его внешних (т. е. более удаленных от ядра) электронов как бы удаляется от ядра; тем самым увеличивается энергетический запас атома за счет поглощенной световой энергии аналогично тому, как при подъеме камня над землей возрастает его потенциальная энергия на величину совершенной работы. Эта аналогия ограничивается принципиальным различием между закономерностями, присущими микромиру, и теми законами, каким подчиняется макромир; так энергия атома не может изменяться непрерывно, а только скачкообразно, на целые кванты.

Если обозначить энергию атома до поглощения им света через E_1 , а после поглощения — E_2 , то разность $E_2 - E_1$ равна энергии поглощенного кванта света:

$$E_2 - E_1 = h\nu.$$

Итак, если атом или молекула поглощают световую энергию, их энергетический запас возрастает на величину поглощенного кванта.

Приобретенный таким образом избыток энергии не сохраняется длительно в молекулах и атомах; отдача или размен его может протекать различными путями. Атомы и молекулы, обладающие повышенным запасом энергии, являются более способными к реакциям; в этом случае погло-

щенная световая энергия переходит в энергию химическую, т. е. вызывает фотохимическую реакцию.

Напомним читателю о той фотохимической реакции, которая лежит в основе нашей жизни, — о фотосинтезе в листьях растений: здесь за счет поглощаемой солнечной энергии из углекислого газа и воды синтезируются органические вещества, богатые химической энергией.

Другой возможный путь отдачи поглощенной световой энергии представляет хорошо всем знакомый переход ее в тепловую энергию: в жаркие летние дни мы защищаемся от солнечных лучей одеждой белого цвета именно для того, чтобы ослабить их поглощение и тем самым избежать перехода лучистой энергии в тепловую.

Наконец, третья возможность, которая и представляет для нас интерес, это тот случай, когда вещества, поглощая лучистую энергию, сами светятся, т. е. световая энергия, поглощенная атомами и молекулами, отдается ими в виде светового же излучения. Это явление и носит название **ф о т о л ю м и н е с ц е н ц и и**.

Некоторые тела обладают способностью аккумулировать поглощаемую ими световую энергию и испускать ее только постепенно; таковы, например, светосоставы, находящиеся сейчас широкое практическое применение; некоторые из них продолжают светиться в течение нескольких часов и даже суток после того, как их перестали освещать («заряжать»). Этот вид люминесценции называют **ф о с ф о р е с ц е н ц и е й**. В отличие от этого люминесценцию во время возбуждения называют **ф л у о р е с ц е н ц и е й** *).

Люминесцентное свечение может возбуждаться и за счет иной энергии, не световой. Так, в телевидении широко применяют **к а т о д о л ю м и н е с ц е н ц и ю**, т. е. свечение вещества при его бомбардировке быстро летящими электронами — катодными лучами.

При окислении фосфора последний, как хорошо известно, светится; это пример **х е м и л ю м и н е с ц е н ц и и**, при которой свечение возбуждается за счет энергии, освобождающейся при химической реакции, в данном случае реакции соединения фосфора с кислородом.

Если в темноте колоть сахар, то наблюдается **т р и б о л ю м и н е с ц е н ц и я** (люминесценция трения) — свечение, связанное с разрушением кристаллов сахара.

Не случайно, что все эти виды свечения физик объединяет общим понятием «люминесценция» и противопоставляет их излучению нагретого тела, например, свечению раскаленной проволоки.

Разграничительный признак между люминесцирующими источниками и тепловыми выявляется при сравнении излучения тех и других с излучением «абсолютно черного тела» при той же температуре.

«Абсолютно черным телом» называют такое тело, которое превращает в теплоту все падающие на него лучи и, следовательно, не отражает и не пропускает сквозь себя лучей. Сажка уже в тонком слое приблизительно удовлетворяет этому условию, она почти не отражает света и потому представляется нам черной. Однако для сажки поглощательная способность, т. е. доля падающей энергии, поглощаемой телом, отлична от единицы и составляет 0,99; «абсолютно черным телом» называют то идеальное тело, для которого поглощательная способность равна единице. Все реальные

*) Мы употребляем два термина: флуоресцирующий и флуоресцентный со значениями, аналогичными указанным для терминов люминесцирующий и люминесцентный (см. примечание на стр. 14).

тела, как бы они ни были черны, все же не полностью поглощают падающую на них лучистую энергию. Чтобы получить абсолютно черное тело из какого-либо материала, устраивают замкнутую полость с малым отверстием. Всякий луч, попавший туда через отверстие или излученный внутри полости участком ее поверхности, уже не сможет оттуда выйти за малостью отверстия, а потому после многократных отражений от стенок полости он полностью поглотится. Поглощательную способность этой полости можно считать равной единице.

Как известно, при нагревании тела начинают светиться. Вначале они излучают красный свет; при дальнейшем повышении температуры излучение становится оранжевым, желтым и, наконец, белым (при температуре около 1500°). При одной и той же температуре свечение тем ярче, чем чернее светящееся тело; раскаленный уголь светится много ярче прозрачного кварца, нагретого до той же температуры. Это объясняется тем, что хотя излучательная способность, так же как и поглощательная, различна у разных тел, однако отношение излучательной способности к поглощательной при одной и той же температуре для всех тел всегда одно и то же и зависит только от температуры (з а к о н К и р х г о ф а): чем тело больше поглощает энергии при данной температуре, тем оно больше ее излучает. Как мы видели, черное тело поглощает полностью всю падающую на него энергию; поглощательная способность для него наибольшая, следовательно, и его излучательная способность самая большая по сравнению со всеми другими телами.

Сказанное справедливо как в отношении излучения в целом, так и в отношении излучения при какой-нибудь одной длине волны (мономатическое излучение).

Таким образом, ни при одной длине волны тепловое излучение какого-либо тела не может быть больше теплового излучения «абсолютно черного тела» при той же температуре.

Черное тело — например уголь — не излучает видимого света при комнатной температуре и начинает светиться только при сильном нагревании. Между тем в вышеприведенных примерах тела флуоресцировали видимым светом даже при комнатной температуре; следовательно, их свечение не может быть тепловым и принципиально от него отлично. Люминесцирующие источники имеют избыточное излучение по сравнению с тепловым. В этом их принципиальное различие.

Все виды люминесценции являются проявлением характерных свойств веществ и потому, вероятно, все они могут быть использованы для распознавания и изучения веществ. Кроме того, своеобразные особенности явления люминесценции позволяют использовать соответствующие наблюдения для разрешения сложных практических задач, во многих случаях не имеющих отношения к химии. Например, с помощью люминесценции была установлена связь водоемов речных систем Дуная и Рейна.

Под общим термином «люминесцентный анализ» объединяют все те приемы решения вопросов практики и теории, в которых заключение выносится на основании наблюдений люминесценции. Однако до последнего времени широкое применение для этой цели находили только наблюдения флуоресценции и притом флуоресценции, возбуждаемой ближними ультрафиолетовыми лучами. Факт этот находит отражение в заглавиях пособий по люминесцентному анализу; так, и английская книга Радлея, и немецкая монография Данкворта озаглавлены: «Люминесцентный анализ

в фильтрованном ультрафиолетовом свете». Круг наблюдений в этих работах сужен; речь идет лишь о свечении, возбуждаемом светом преимущественно длины волны 366 мкм. В противоположность непрерывному спектру лампы накаливания или Солнца (ср. рис. 3) спектр ртутной лампы линейчатый; линия длины волны 366 мкм в нем особенно интенсивна, а так как удалось изготовить светофильтр (вудовское стекло), который почти не ослабляет света этой длины волны, но задерживает всю видимую часть спектра, то понятно, что наблюдения люминесценции, возбуждаемой преимущественно этим светом, т. е. ртутной линией 366 мкм, оказались особенно легко реализуемыми.

При применении методов люминесцентного анализа к органическим соединениям наблюдения в ближнем ультрафиолетовом свете являются наиболее эффективными, так как возбуждение флуоресценции более коротковолновыми или ультрафиолетовыми или катодными лучами всегда сопряжено с риском вызвать в веществе глубокие химические изменения.

В отношении неорганических соединений попытки применять в качестве возбuditеля люминесценции коротковолновые ультрафиолетовые лучи (искру), а равным образом катодные лучи, всецело оправдались.

Поскольку в люминесцентном анализе используют, как мы видели, люминесценцию различного характера, естественно напрашивается подразделение люминесцентного анализа на следующие основные разделы:

1. Люминесцентный анализ, основанный на наблюдении фотолюминесценции.

2. Люминесцентный анализ, основанный на наблюдении катодной рентгенолюминесценции.

3. Люминесцентный анализ, основанный на наблюдении хемилюминесценции.

Разделы эти по своему удельному весу, разумеется, неравноценны: люминесцентный анализ, основанный на наблюдении фотолюминесценции, а именно флуоресценции, имеет, как мы видели, большую давность и, естественно, превалирует над другими видами люминесцентного анализа как по числу посвященных ему работ, так и по достигнутым результатам. Однако нам представляется целесообразным уделить внимание и последним, поскольку они хотя еще и мало изучены, но весьма перспективны.

За последнее десятилетие наблюдения люминесценции получили широкое применение для регистрации ядерных излучений: α -частиц, протонов, нейтронов и γ -лучей. Этот новый и чрезвычайно важный раздел люминесцентного анализа отпочковался в самостоятельную область. В главе X даны краткие сведения, необходимые приступающему к работе с применением сцинтилляторов.

ЛИТЕРАТУРА к гл. I

1. С. И. Вавилов, Глаз и Солнце, Изд. АН СССР, 7-е изд., М., 1956; Собр. соч., т. IV, стр. 159, Изд. АН СССР, 1956.
С. И. Вавилов, Холодный свет, Изд. АН СССР, М., 1937; О «теплом» и «холодном» свете, Изд. АН СССР, М., 1949; Собр. соч., т. IV, стр. 111, Изд. АН СССР, М., 1956.
2. В. Л. Левшин, Холодный свет, Изд. АН СССР, М.-Л., 1938.
В. Л. Левшин, Холодное свечение. Изд. стенограммы лекции Общества по распространению политических и научных знаний, М., 1949.
3. М. Константинова-Шлезингер, Люминесцентный анализ, ч. I и II. Зав. лабор., т. VIII, стр. 7 и 957 (1939); Академик С. И. Вавилов и его роль в развитии люминесцентного анализа, Ж. анал. хим. 11, № 1, 115 (1956).

4. P. W. Danckwortt und J. Eisenbrand, Lumineszenzanalyse im filterierten ultravioletten Licht, 1956, 6-е изд., Leipzig.
П. Д а н к в о р т, Люминесцентный анализ в фильтрованном ультрафиолетовом свете. Перевод со 2-го изд., ГНТИ, М., 1931 (3-е и 4-е издания немецкой книги существенно переработаны и дополнены по сравнению со 2-м изданием).
 5. J. A. Radley, J. Grant, Fluoreszenz Analysis in Ultraviolet Light., 4 ed., 1954, London.
 6. M. Haitinger, Die Fluoreszenzanalyse in der Mikrochemie, 1937, Wien — Leipzig.
 7. M. Haitinger, Fluoreszenzmikroskopie, ihre Anwendung in der Histologie und Chemie, Leipzig, 1938.
 8. M., Deribéré, Les applications pratiques de la luminescence, Paris, DUNOD, 1955.
 9. Ch. Dhéré, Nachweis der biologisch Körper durch Fluoreszenz und Fluoreszenzspektren. Abderhalden. Handbuch d. biol. Arbeitsmethoden. Abt. II, Physik Methods, Teil 3, h. 4, стр. 3097, 1932.
 10. Ch. Dhéré, La fluorescence en biochimie, 1937, Paris, Coll. Problèmes biologiques. Les presse Universitaires.
 11. П. Прингсхейм, М. Фогель, Люминесценция жидких и твердых тел, ИЛ, 1948, Москва.
 12. М. Константинова-Шлезингер, Реферативный сборник по люминесцентному анализу, Изд. АН СССР, вып. I, 1951 и вып. II, 1954.
 13. Научная литература по вопросам люминесценции. Библиография 1935—1946 гг., стр. 150, Изд. Академии наук, М.—Л., 1948.
 14. М. Константинова-Шлезингер, Химический флуоресцентный анализ, Труды Физич. ин-та АН СССР, II, вып. 2—3, стр. 7—122, 1942.
 15. М. Константинова-Шлезингер, Обзорные статьи, Изв. АН СССР, сер. физич., т. IX, № 4—5, стр. 469 (1945); Изв. АН СССР, сер. физич. 13, № 2, 237 (1949); 15, № 6, 762—766 (1951); Методы люминесцентного анализа. Материалы VIII совещания по люминесценции, стр. 8, Изд. АН БССР, Минск, 1960.
 16. С. И. Вавилов, Б. Я. Свешников, «Новости медицины» 2, 3 (1940).
 17. Люминесцентный анализ, Материалы IV совещания по люминесценции, Изд. АН БССР, 1956; Методы люминесцентного анализа, Материалы VIII совещания по люминесценции, Изд. АН БССР, Минск, 1960.
-

ГЛАВА II

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОНЯТИЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ. ОСНОВНЫЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ, ХАРАКТЕРНЫЕ ДЛЯ ФОТОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ РАСТВОРОВ

1. Понятие люминесценции

В главе I мы кратко познакомились с явлением люминесценции. Раньше чем приступить к рассмотрению фотолюминесценции растворов, остановимся на уточнении понятия люминесценции [1].

Люминесценцию часто называют «холодным светом». В таком определении есть доля истины, так как температура люминесцирующих тел обычно невысока или даже такая же, как у окружающей среды. Однако в некоторых случаях люминесценция возникает только при нагревании тела (так называемая *термо- или кандолюминесценция*); здесь говорить о «холодном свете», разумеется, нельзя.

Точное определение люминесценции более сложно, оно исходит из сопоставления свойств люминесцентного излучения и общих законов так называемого *теплового равновесного излучения* тел. Всякое тело (твердое, жидкое, газообразное) поглощает и излучает свет. Так называемое «абсолютно черное тело» должно, как мы видели, поглощать весь падающий на него свет во всех частях спектра и вместе с тем излучать свет. На основании самых общих физических положений (принципов термодинамики) можно утверждать, что для какого-либо тела отношение излучательной способности E_λ для данной волны света к поглощательной способности A_λ равно

$$\frac{E_\lambda}{A_\lambda} = S_\lambda,$$

где S_λ — излучательная способность абсолютно черного тела при той же температуре, как и у данного тела, и для той же длины волны λ . Если же какое-нибудь тело при данной температуре T излучает больше, чем $E_\lambda = S_\lambda A_\lambda$, а именно \mathcal{E}_λ , то разницу $\mathcal{E}_\lambda - E_\lambda$ и называют *люминесценцией*.

Таким образом, то свечение тела, которое мы наблюдаем при его освещении (например, ультрафиолетовыми лучами), аддитивно складывается из двух процессов — из равновесного теплового излучения (с энергией E_λ) и неравновесной люминесценции (с энергией $\mathcal{E}_\lambda - E_\lambda$). Как показал Вавилов, конечная длительность послесвечения, определяемая длительностью возбужденного состояния, служит критерием, отличающим люминесценцию от других неравновесных излучений, не имеющих послесвече-

ния, протекающих мгновенно (например, рассеяние и отражение света, излучение Вавилова — Черенкова).

В люминесцентном анализе наиболее широкое применение находят наблюдения флуоресценции растворов; поэтому нам надлежит познакомиться с теми закономерностями, которые характерны для этого вида люминесценции.

2. Правило Стокса

Исторически первой закономерностью, установленной в отношении фотолюминесценции растворов, было правило Стокса*), согласно которому спектр флуоресценции растворов, по сравнению со спектром абсорбции, смещен в сторону больших длин волн, к красному концу спектра. Следовательно, вещества, поглощающие ультрафиолетовый свет, могут флуоресцировать любым светом (как мы это и видели в примере, описанном в главе I); но вещества, флуоресценция которых возбуждается синим светом, не могут светиться фиолетовым, а только зеленым, желтым.

красным, словом, таким светом, который соответствует большим длинам волн. Правило Стокса становится особенно наглядным при его графическом выражении (рис. 10). На рис. 10 по оси абсцисс отложены частоты колебаний**), по оси ординат — величины, пропорциональные интенсивностям излучения (кривая флуоресценции Φ) и коэффициентам поглощения (кривая абсорбции A). Рассмотрение этих кривых показывает, что флуоресценция наиболее сильно поглощает при длине волны около 490 мкм и является совершенно прозрачным для света с длинами волн больше 520 мкм. Кривая флуоресценции показывает, что яркость свечения наибольшая при длине волны около 520 мкм; интенсивность флуоресценции спадает как в сторону больших, так и в сторону меньших длин волн и свечение совершенно исчезает при длинах волн больше 600 мкм и меньше 490 мкм. Следовательно, и спектр флуоресценции в целом и его максимум смещены в более длинноволновую сторону относительно спектра поглощения. Следует отметить, что в области длин волн 520—490 мкм оба спектра перекрываются: на этом небольшом участке длин волн вещество может и испускать и поглощать свет одной и той же длины волны.

Согласно квантовым представлениям правило Стокса обозначает, что энергия кванта, излучаемого флуоресцирующим веществом, всегда меньше кванта поглощаемого света, возбуждающего свечение.

*) Стокс — выдающийся английский исследователь XIX в.

**) Частота колебаний связана с длиной волны соотношением $\nu = \frac{c}{\lambda}$.

На рисунке по оси абсцисс отложены частоты, уменьшенные в 10^{12} раз; так, частоте $6 \cdot 10^{14} \text{ сек}^{-1} = 600 \cdot 10^{12} \text{ сек}^{-1}$ соответствует длина волны $\lambda = \frac{3 \cdot 10^{10} \text{ см} \cdot \text{сек}^{-1}}{6 \cdot 10^{14} \text{ сек}^{-1}} = 5 \cdot 10^{-5} \text{ см} = 500 \text{ мкм}$. Для ориентировки на рисунке под шкалой частот приведены соответствующие длины волн.

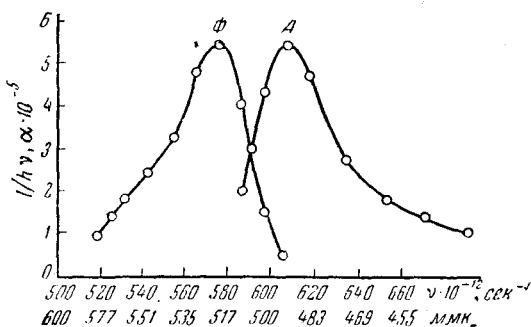


Рис. 10. Сравнение спектров абсорбции и флуоресценции щелочного раствора флуоресценна [2].

3. Правило зеркальной симметрии

В результате работ последних десятилетий установлены следующие закономерности, характеризующие свойства флуоресцентного излучения.

Распределение энергии в спектре флуоресценции вещества в растворах во многих случаях (но не всегда) не зависит от длины волны возбуждающего света, т. е., иными словами, спектр наблюдаемой флуоресценции остается тем же, независимо от того, светом какой частоты мы его возбуждаем.

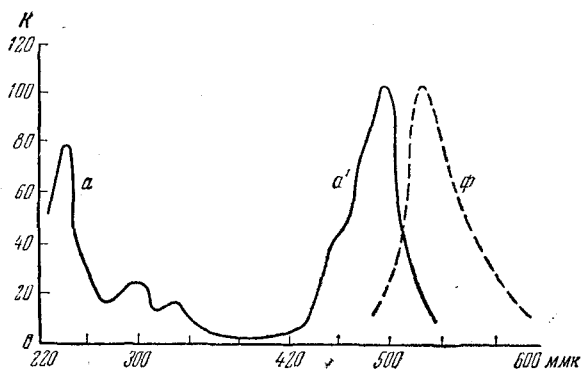


Рис. 11. Спектр флуоресценции раствора флуоресцина;

спектр (пунктирная кривая Φ) остается неизменным независимо от того, возбуждать ли его ультрафиолетовым светом (полоса абсорбции a) или видимым светом (полоса абсорбции a'); K — коэффициент поглощения в относительных единицах.

Например, раствор флуоресцина светится одинаково при его освещении как ультрафиолетовым, так и синим светом, разумеется, при условии, что длины волн света, возбуждающего свечение, лежат в области поглощения раствора*) (рис. 11).

Для многих веществ, например красителей типа флуоресцина, спектр абсорбции и спектр флуоресценции зеркально симметричны (правило Левшина) [2]. Это видно из сопоставления кривых, приведенных на рис. 12, заимствованных из работы В. Л. Левшина [2]. Если два вещества флуоресцируют в

одинаковой области длин волн, то отсюда еще не следует, что спектры их флуоресценции тождественны. Уже указывалось, что для характеристики как флуоресцентного, так и всякого иного излучения существенным является не только интервал длин волн, в котором лежит его спектр, но и соотношение интенсивностей свечения при разных длинах

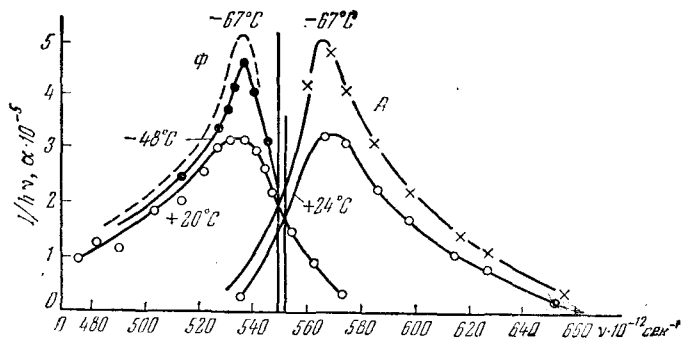


Рис. 12. Зеркальная симметрия спектров абсорбции (A) и флуоресценции (Φ) роданина бЖ.

одинаковой области длин волн, то отсюда еще не следует, что спектры их флуоресценции тождественны. Уже указывалось, что для характеристики как флуоресцентного, так и всякого иного излучения существенным является не только интервал длин волн, в котором лежит его спектр, но и соотношение интенсивностей свечения при разных длинах

*) Если длина волны возбуждающего света лежит в области длин волн самого спектра излучения, то в спектре флуоресценции наблюдается некоторая деформация в той его части, для которой длина волны возбуждающего света больше длины волны излучения, в так называемой антистоксовой области спектра.

волн, т. е. форма кривой излучения. Сказанное, разумеется, справедливо и в отношении спектров абсорбции. Для получения этой характеристики флуоресценции (или абсорбции) вещества наносят, как мы видели, на оси абсцисс длины волн или частоты колебаний, а на оси ординат—соответствующие интенсивности флуоресценции (или абсорбции)*).

Зеркальная симметрия спектров абсорбции и флуоресценции интересна с теоретической точки зрения, поскольку она отображает сходство законов распределения в обеих системах энергетических уровней — нижних (т. е. уровней невозбужденной молекулы) и верхних (т. е. уровней после поглощения молекулой светового кванта).

Правило Стокса устанавливает, как мы видели, связь между спектрами поглощения и флуоресценции веществ в растворе. П р а в и л о с и м м е т р и и конкретизирует эту связь, однако оно справедливо только в отношении тех веществ, молекулы которых обладают сходным строением верхних и нижних энергетических уровней; описаны вещества, симметрия спектров которых носит только качественный характер; известны и такие случаи, когда симметрия отсутствует почти полностью.

4. Выход люминесценции. Закон Вавилова

Значительную ясность в понимание явления флуоресценции вносит установленный С. И. Вавиловым закон, согласно которому квантовый выход флуоресценции не зависит от длины волны возбуждающего света вплоть до некоторой предельной длины волны λ_0 [3]. Квантовым выходом люминесценции называется отношение числа излученных квантов к числу поглощенных. Энергетическим выходом называется отношение излученной энергии к энергии поглощенной. Если возбуждать свечение, например, флуоресценца ультрафиолетовым светом или видимым светом различной длины волны, то независимо от того, светом какой длины волны мы в каждом отдельном случае возбуждаем флуоресценцию, остаются неизменными не только спектр флуоресценции (на это уже указывалось), но в известном интервале длин волн и квантовый выход.

Независимость квантового выхода от длины волны возбуждающего света одновременно означает, что энергетический выход растет пропорционально длине волны возбуждающего света. В самом деле, энергия кванта обратно пропорциональна длине волны $\left(\varepsilon = h\nu = h\frac{c}{\lambda} \right)$, и таким образом с увеличением длины волны возбуждающего света падает энергия поглощенного кванта и, следовательно, энергетический выход растет.

Согласно Вавилову, для каждого вещества характерна некоторая предельная длина волны λ_0 , за которой начинается резкое спадание выхода, т. е., иными словами, если возбуждать свечение светом длины волны, большей λ_0 , то доля молекул, отдающих в виде флуоресцентного излучения энергию поглощенных ими световых лучей, резко снижается. На рис. 13 приведена экспериментально полученная кривая С. И. Вавилова (сплошная линия); по оси абсцисс нанесены длины волн света, которым возбуждалась флуоресценция в каждом отдельном опыте, по оси ординат

*) Так, на рис. 10 и 12 (данные Левшина), по оси абсцисс нанесены частоты, по оси ординат для правых кривых отложены значения показателя поглощения, а для левых—интенсивности флуоресценции соответствующей частоты, деленные на эту частоту, т. е. величины, пропорциональные числу испускаемых квантов данной длины волны. Максимумы обеих кривых условно отложены как равные. Аналогичные кривые даны Левшиным для ряда других красителей.

отложены измеренные им значения энергетического выхода. Кривая показывает, что начиная с некоторой критической длины волны возбуждающего света выход η резко падает до 0. Прямолинейный ход восходящей ветви этой экспериментальной кривой показывает, что энергетический выход пропорционален длине волны возбуждающего света, т. е. квантовый выход остается при этом постоянным. В самом деле, как видно из вышесказанного, число квантов на единицу поглощенной энергии возрастает пропорционально длине волны возбуждающего света; излучаемая же энергия измерена на протяжении всей кривой при одной и той же длине волны. Пунктиром на рис. 13 показан теоретический ход кривой.

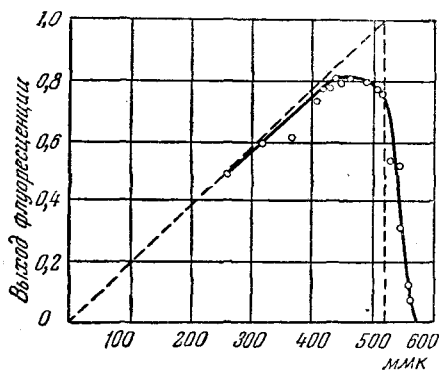


Рис. 13. Зависимость энергетического выхода флуоресценции от длины волны возбуждающего света (по Вавилу).

возбуждающего света, на оси ординат — для каждого вещества соответствующие значения относительного квантового выхода, точнее, измеренные Соломиным для 17 веществ отношения яркостей, которые в условиях

На рис. 14 приведены экспериментальные данные более поздней работы [4]; на оси абсцисс нанесены, как и на кривой рис. 13, длины волн

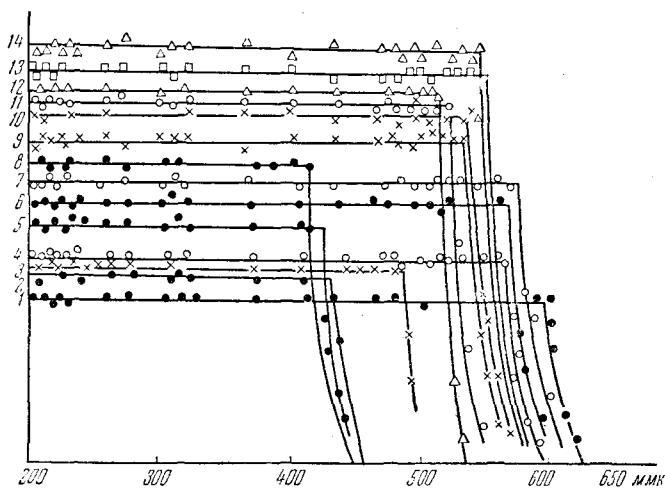


Рис. 14. Относительный квантовый выход люминесценции для различных веществ в функции длины волны возбуждающего света;

1 — родамин; 2 — эскулин; 3 — урановое стекло; 4 — роза бенгальская; 5 — нафтол; 6 — родамин кислый; 7 — сульфородамин; 8 — хинин бисульфат; 9 — бензофлавин; 10 — озонин; 11 — трипфлавин; 12 — флуоресцеин; 13 — акридин; 14 — эритровин.

его опыта были равны отношению выходов. Эти данные хорошо подтверждают справедливость закона Вавилова; они показывают, что квантовый выход флуоресценции не зависит от длины волны возбуждающего света вплоть до предельной волны λ_0 , начиная с которой он быстро падает до 0.

Резко спадающая ветвь отвечает той так называемой антистоксовой области, в которой, в нарушение правила Стокса, излучаемые кванты имеют энергию большую, чем поглощенные; добавочная энергия черпается молекулами, очевидно, за счет их колебательной энергии. Это явление детально изучено, например, в работе [5].

5. Тушение люминесценции

Если флуоресценцию очень разбавленного раствора, приготовленного, например, разбавлением в 10 тысяч раз 10%-ного раствора флуоресцирующего вещества, сравнить с флуоресценцией растворов того же вещества, но содержащих его в несколько раз больше, то отчетливо видно, как интенсивность свечения возрастает по мере увеличения концентрации. Однако если сравнить флуоресценцию этих разбавленных растворов с флуоресценцией раствора относительно концентрированного, например однопроцентного, то окажется, что разбавленные растворы обладают более интенсивной флуоресценцией, нежели концентрированные: интенсивность флуоресценции пропорциональна концентрации флуоресцирующего вещества только в тех случаях, когда содержание его в растворе очень мало — порядка 10^{-4} — 10^{-5} г/мл или меньше. При больших концентрациях интенсивности свечения растворов возрастают медленнее, чем их концентрации, а при дальнейшем увеличении содержания флуоресцирующего вещества интенсивности свечения начинают даже снижаться, уменьшается отношение числа высвеченных квантов к числу поглощенных.

Уменьшение выхода флуоресценции, так называемое тушение (см. ниже), вызывается не только молекулами самого флуоресцирующего вещества, но может обуславливаться и присутствием других компонентов [6], как органических, так и неорганических. Например, интенсивность флуоресценции различных флуоресцирующих веществ — флуоресцеина, родамина, хирина и т. д. — значительно снижается, если раствор содержит несколько процентов галогенидов, как-то: иодистого калия, хлористого натрия и др.

В люминесцентном анализе эти особенности явления люминесценции играют большую роль. При проведении анализов, связанных с количественными измерениями, во избежание ошибок следует учитывать явление тушения, а в ряде случаев само явление тушения может быть с успехом использовано для целей анализа (ср. гл. XII, XIV). Работами С. И. Вавилова и его школы, а за последние годы исследованиями М. Д. Галанина и др. природа этих явлений в значительной мере выяснена.

Процессы, вызывающие уменьшение выхода люминесценции, объединяются под общим названием тушения люминесценции. Однако обычно в это понятие не включаются случаи уменьшения выхода люминесценции, сводящиеся к «перехвату» части энергии возбуждения или люминесценции. Это может наблюдаться, например, в том случае, когда в растворе присутствует какая-либо посторонняя примесь, поглощающая часть возбуждающего света или часть света люминесценции. При этом хотя интенсивность свечения снижается, но доля молекул, отдающих поглощенную энергию в виде светового излучения, может и не изменяться. То же самое будет наблюдаться, если растворитель обладает поглощением в спектральной области возбуждения или излучения. Очевидно, что такие случаи, когда уменьшение выхода происходит благодаря присутствию как бы «внутреннего светофильтра», нерационально объединять с истинным тушением, обусловленным процессами, происходящими в самих люминесцирующих молекулах.

Согласно С. И. Вавилову [7], все виды тушения люминесценции (истинного тушения) разделяются на два класса. К тушению 1-го рода относятся такие процессы, при которых уменьшение выхода люминесценции не сопровождается уменьшением средней длительности возбужденного состояния молекул. Это значит, что при тушении 1-го рода некоторая доля возбужденных молекул оказывается потушенной (т. е. переходит в основное состояние без излучения) за время очень короткое по сравнению со средним временем возбужденного состояния. Такие процессы, хотя и представляются вполне возможными, сравнительно мало изучены. Хорошо известен и твердо установлен пример тушения 1-го рода — уменьшение выхода люминесценции при антистоксовом возбуждении (закон Вавилова, см. стр. 31). Однако механизм этого явления до сих пор не может считаться полностью выясненным.

К тушению 2-го рода по С. И. Вавилову относятся такие процессы тушения, которые происходят в течение времени τ возбужденного состояния молекул. Поэтому уменьшение выхода люминесценции при тушении 2-го рода сопровождается уменьшением средней длительности возбужденного состояния и, следовательно, ускорением затухания люминесценции. В самом деле, чем дольше молекула сохраняет энергию возбуждения, не отдавая ее в виде излучения, тем больше для нее вероятность претерпеть тушащее соударение. Следовательно, высвечиваться будут преимущественно молекулы с малым τ , и наблюдаемая длительность возбужденного состояния τ (средняя длительность жизни) окажется сниженной. Если вероятность тушения одинакова в течение всего времени возбужденного состояния, то выход и длительность люминесценции изменяются пропорционально друг другу. Однако такой простейший случай осуществляется обычно только приближенно. Чаще уменьшение выхода сильнее, чем уменьшение времени жизни возбужденного состояния. Рассмотрим некоторые свойства наиболее важных видов тушения флуоресценции растворов.

а) *Температурное тушение.* Тушение при повышении температуры наблюдается у многих флуоресцирующих растворов и относится к тушению 2-го рода, хотя уменьшение выхода и идет, по-видимому, обычно быстрее, чем уменьшение длительности [8]. Температурное тушение происходит вследствие того, что с повышением температуры увеличивается безызлучательная потеря энергии возбужденными молекулами. Растворы некоторых флуоресцирующих веществ могут оказаться частично потушенными уже при комнатной температуре и дают яркую люминесценцию только при охлаждении. Связь температурного тушения со строением люминесцирующих молекул не установлена и в настоящее время нельзя предсказать, для каких веществ можно ожидать температурное тушение. В некоторых случаях тушение, наблюдаемое при повышении температуры, обусловлено не самим изменением температуры, а связанным с ним изменением вязкости раствора. В этих случаях наблюдается тушение и при постоянной температуре, если уменьшать вязкость, например, путем изменения растворителя. Такой вид тушения наблюдается у веществ, молекулы которых не имеют «жесткой» структуры и допускают вращение отдельных групп *). К таким веществам относятся, например, некоторые трифенилметановые красители, которые практически не люминесцируют в жидких растворах, но хорошо люминесцируют в сахарных леденцах или

*) По-видимому, изменение тушения связано в этом случае с закреплением и тем самым изменением «жесткости» люминесцирующей молекулы.

в замороженных спиртовых или глицериновых растворах [8, 9]. Другие примеры см. в [10].

б) *Тушение посторонними веществами.* Многие вещества («тушители»), добавленные в флуоресцирующие растворы, вызывают тушение. Тушащее действие различных веществ очень различно. Прежде всего нужно различать два случая, которые можно назвать нерезонансным (или обычным) и резонансным тушением. В первом из них тушители прозрачны (т. е. не поглощают свет) в спектральной области люминесценции данного раствора. Во втором — спектр поглощения тушителя и спектр люминесценции вещества в большей или меньшей степени перекрываются.

К типичным нерезонансным тушителям относятся йодистый калий и другие соли галогенов, многие органические вещества — анилин, фенол, резорцин, а также во многих случаях растворенный кислород. В той или иной степени тушат флуоресценцию очень большое число веществ. При этом не всегда вещество, вызывающее сильное тушение одного флуоресцирующего раствора, является сильным тушителем для другого. Установить связь между химическим строением вещества и его тушащим действием, несмотря на ряд попыток, пока не удалось. Тем не менее, кинетика процесса тушения сильными нерезонансными тушителями в жидких растворах хорошо выяснена. Физическая теория тушения была разработана С. И. Вавиловым и Б. Я. Свешниковым [11]. Согласно этой теории тушение происходит в результате соударений возбужденных молекул флуоресцирующего вещества с молекулами тушителя. В этом смысле тушение в растворах аналогично тушению флуоресценции газов, происходящему при так называемых «ударах второго рода»^{*}). Однако существенное отличие этого процесса в жидкостях, подчеркнутое впервые С. И. Вавиловым, состоит в том, что тушение в этом случае определяется не полным числом соударений возбужденных молекул с молекулами тушителя, а так называемыми «первыми соударениями». В жидком растворе столкнувшиеся молекулы имеют тенденцию испытывать повторные соударения. Полное число соударений в разбавленных («идеальных») растворах определяется газокинетической формулой и не зависит от вязкости. Наоборот, число первых соударений существенно зависит от вязкости раствора. Сам процесс соударения можно представлять себе как результат диффузионного движения молекул. Задача такого типа была теоретически рассмотрена М. Смолуховским в его теории коагуляции коллоидов. Этот же метод был применен и развит С. И. Вавиловым и Б. Я. Свешниковым в теории тушения флуоресценции. Согласно этой теории отношение выходов непотушенного и потушенного растворов выражается формулой

$$\frac{\eta_0}{\eta} = (1 + 4\pi\rho DR\tau_0 c) \delta, \quad (1)$$

где τ_0 — среднее время возбужденного состояния для непотушенного раствора (обычно величина порядка $10^{-9} - 10^{-8}$ сек), D — коэффициент диффузии (обратно пропорциональный вязкости), R — сумма радиусов соударяющихся молекул, ρ — коэффициент, учитывающий вероятность тушения при соударении, c — концентрация тушителя (выраженная числом молекул в см³), δ — множитель, несколько больший единицы и растущий с концентрацией. Теория хорошо согласуется с экспериментальными данными. В последнее время были экспериментально проверены тонкие

^{*}) То есть таких столкновениях молекул, при которых энергия возбуждения одной молекулы переходит в кинетическую энергию другой.

следствия теории, касающиеся отступлений от пропорционального изменения выхода и τ , оказавшиеся в полном согласии с ожидавшимися [12].

При тушении даже наиболее сильными тушителями, например КJ, заметное уменьшение выхода (например, в 2—3 раза) наблюдается при концентрации тушителя порядка 0,1 моль/л. Гораздо сильнее уменьшение выхода при резонансном тушении или «тушении поглощающими веществами». В этом случае соответствующие концентрации тушителя порядка 10^{-4} — 10^{-3} моль/л. При резонансном тушении истинное тушение всегда сопровождается «эффектом светофильтра», так как тушитель обычно поглощает в какой-то степени возбуждающий свет и свет люминесценции. Поэтому наблюдаемое общее уменьшение интенсивности свечения оказывается больше обуславливаемого истинным тушением. Резонансное тушение растворов было открыто Перреном и исследовано Т. Ферстером, С. И. Вавиловым и М. Д. Галаниным [13]. Теория этого типа тушения основана на представлении о резонансном индуктивном взаимодействии молекул [14]. Особенностью резонансного тушения является то, что в этом случае передача энергии возбужденной молекулы к молекуле тушителя может происходить без соударения, т. е. на довольно значительном расстоянии (порядка 30—50 Å). Поэтому резонансное тушение сравнительно слабо зависит от вязкости растворителя [13, 15] и зависит главным образом от степени перекрытия спектра люминесценции со спектром поглощения тушителя.

в) *Концентрационное тушение («самотушение»)*. Во многих флуоресцирующих растворах тушение наступает не только при добавлении посторонних веществ, но и при увеличении концентрации самого люминесцирующего вещества. У флуоресцирующих красителей концентрационное тушение становится вполне заметным уже при концентрации порядка 10^{-3} моль/л. Имеются, однако, случаи, когда концентрационное тушение очень слабо вплоть до значительно больших концентраций (большей частью у веществ с синей флуоресценцией и со слабо перекрывающимися спектрами поглощения и люминесценции). Согласно С. И. Вавилову [14], концентрационное тушение представляет собой частный случай резонансного тушения, когда происходит передача энергии возбужденной молекулы к невозбужденной молекуле того же самого вещества. Часть таких переносов энергии сопровождается тушением, чем и объясняется уменьшение выхода свечения раствора в целом. Вероятность переноса энергии зависит от расстояния между молекулами и, следовательно, возрастает с увеличением концентрации, когда среднее расстояние между молекулами уменьшается. На основе этих представлений С. И. Вавилову удалось объяснить с единой точки зрения всю совокупность явлений, наблюдающихся при увеличении концентрации, — деполаризацию люминесценции, уменьшение выхода и длительности флуоресценции (см. [14]).

В некоторых случаях, особенно в водных растворах, явление концентрационного тушения осложняется физико-химическими явлениями — изменением степени диссоциации растворенного вещества или ассоциацией молекул с образованием димеров или более сложных ассоциатов. При этом часто димеризованные молекулы не обладают люминесценцией (иногда спектр люминесценции у них иной, чем у мономеров), и уменьшение выхода в таких случаях может быть обусловлено двумя причинами. Во-первых, нелюминесцирующие димеры могут давать эффект светофильтра, о котором говорилось выше, и, во-вторых, возможен резонансный перенос энергии от возбужденных простых молекул к димеризованным.

Явления диссоциации и ассоциации при изменении концентрации флуоресцирующих растворов исследовались в работах В. Л. Левшина и его сотрудников [16] (см. гл. III).

Читателя, желающего более подробно ознакомиться с основными закономерностями люминесценции, отсылаем к книгам советских и иностранных авторов, опубликованным в последние годы [17—21] и рассчитанным на более подготовленного читателя.

ЛИТЕРАТУРА К ГЛ. II

1. С. И. Вавилов, Изв. АН СССР 9, № 4—5, 279 (1945).
2. В. Л. Левшин, Ж. физ. хим. 2, 641 (1931); Zs. f. Phys. 72, 368 (1931); Acta physicochimica URSS 1, 685 (1935); 6, 243 (1937).
3. С. И. Вавилов, Zs. f. Phys. 42, 311 (1927); Собр. соч., т. I, стр. 227, Изд. АН СССР, 1954.
4. С. С. Соломин, ДАН СССР 31, 741 (1941); С. И. Вавилов, Изв. АН СССР, сер. физич. 9, № 4—5, 283 (1945).
5. Л. А. Тумерман, Труды Физ. ин-та АН СССР, т. 1, вып. 4 (1938).
6. J. Weiss, Nature 152, 176 (1943); E. J. Bowen a. A. H. Williams, Trans. Farad. Soc. 35, 765 (1939); Э. В. Шпольский, Ж. физ. хим. 19, 107 (1945); E. Banderet, Helv. Phys. Acta 1937, 259; S. Sambursky a. G. Wolfsohn, Nature 157, 228 (1946); J. A. Miller a. C. A. Baumann, J. Am. Chem. Soc. 65, 1540 (1943).
7. С. И. Вавилов, Acta phys. polonica 5, 417 (1936) (Собрание сочинений, т. I, стр. 438, Изд. АН СССР, 1954).
8. М. Д. Галанин, Труды Физ. ин-та АН СССР, т. 5, 339 (1950).
9. П. П. Феофилов, ДАН СССР 45, № 9 (1944).
10. В. А. Кизель и У. И. Сафронова, Оптика и спектроскопия 5, № 4, 482 (1958).
11. С. И. Вавилов, Zs. f. Phys. 53, 665 (1929) (Собр. соч., т. I, стр. 275, Изд. АН СССР, 1954); С. И. Вавилов и И. М. Фраик, Zs. f. Phys. 69, 100 (1931) (Собр. соч., т. I, стр. 303, Изд. АН СССР, 1954); Б. Я. Свешников, Acta physicochim. USSR 3, 257 (1935); Труды ГОИ 12, вып. 108 (1938); УФН 66, 331 (1952).
12. Л. А. Кузнецова, Б. Я. Свешников и В. И. Широков, Оптика и спектроскопия 2, 578 (1957).
13. J. Regnier et Mlle Choucrogn, C. R. 189, 1213 (1929); Th. Förster, Ann. d. Phys. 2, 55 (1948); С. И. Вавилов и М. Д. Галанин, ДАН СССР 67, 811 (1949); М. Д. Галанин, Диссертация, ФИАН, 1955.
14. С. И. Вавилов, Микроструктура света, М., 1950; Собр. соч., т. II.
15. М. Д. Галанин, ЖЭТФ 28, 485 (1955).
16. В. Л. Левшин и Е. Г. Баранова, Оптика и спектроскопия 6, 55 (1959).
17. С. И. Вавилов, Собр. сочинений в пяти томах, М., Изд. АН СССР, 1952—1956.
18. В. Л. Левшин, Фотолюминесценция жидких и твердых веществ, Гостехиздат, 1951.
19. П. Прингсхейм, Флуоресценция и фосфоресценция (перевод), М., ИЛ, 1951.
20. Б. И. Степанов, Люминесценция сложных молекул, ч. I, Минск, Изд. АН БССР, 1955.
21. П. И. Феофилов, Поляризованная люминесценция атомов, молекул и кристаллов, М., Физматгиз, 1959.

ГЛАВА III

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА ФЛУОРЕСЦЕНЦИЮ ВЕЩЕСТВА В РАСТВОРЕ, И УСЛОВИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ ЦЕЛЕЙ

Если наблюдения флуоресценции используют для установления идентичности того или иного вещества, для обнаружения его присутствия, для контроля химических изменений, претерпеваемых веществом, для определения количественного его содержания или степени чистоты, — во всех этих и подобных случаях люминесцентный анализ применяется как метод химического анализа. Как таковой он должен быть противопоставлен тому виду люминесцентного анализа, который мы условно будем называть «сортовым» (групповым), при котором наблюдения флуоресценции используют для разрешения вопросов, не имеющих отношения к химии, например, для выяснения степени проникновения жидкости в твердую среду, для определения сорта того или иного промышленного изделия, для выявления в нем дефектов, для обнаружения порчи естественных продуктов и т. д. Между обоими видами люминесцентного анализа — химическим и сортовым — нельзя провести резкой границы хотя бы уже потому, что химический флуоресцентный анализ при его использовании как экспресс-метода в значительной мере перерождается в сортовой и, наоборот, во многих случаях обоснование методов сортового анализа химическими данными повышает достоверность методов и расширяет сферу их применения.

По сравнению с сортовым анализом химический флуоресцентный анализ сложнее и требует выяснения ряда специальных вопросов. Надобность в этом возникает нередко и при применении сортового люминесцентного анализа: в ряде случаев только при условии правильного истолкования используемых опытов можно проводить их так, чтобы результаты сортового анализа были достоверными и повторимыми. Вот почему общетеоретическое обоснование химического флуоресцентного анализа мы излагаем раньше разбора приемов, используемых в сортовом анализе, полагая, что сведения, сообщаемые в настоящей и следующих главах, окажутся полезными каждому, работающему по люминесцентному анализу.

1. Влияние концентрации водородных ионов

Часто говорят о непригодности флуоресцентных наблюдений для целей химического анализа вследствие влияний, оказываемых средой на флуоресценцию растворенного вещества. В самом деле, в литературе имеются многочисленные указания на изменения флуоресценции, вызываемые различными факторами; естественно поэтому усомниться, возможно ли судить

по флуоресценции раствора о присутствующих в нем веществах, а тем более определять их концентрацию. Однако анализ факторов, влияющих на флуоресценцию раствора, приводит к выводу, что можно их влияние элиминировать или в достаточной мере точно учитывать, если только проводить наблюдения в определенных условиях. Для аналитика, применяющего флуоресцентный метод анализа, концентрация водородных ионов *) является одним из наиболее существенных факторов, влияющих на флуоресценцию растворенного вещества; игнорирование его послужило источником большого числа недоразумений.

В работах, посвященных изучению флуоресценции, степень диссоциации флуоресцирующих молекул часто не принимают во внимание; соответственно не учитывают и влияние рН среды. Между тем флуоресцирующие вещества применяют как индикаторы, и, следовательно, по крайней мере эти вещества светятся по-разному в зависимости от концентрации водородных ионов в растворе.

В самом деле, поскольку спектры абсорбции ионов и недиссоциированных молекул различны, а спектры флуоресценции и абсорбции, как мы видели (стр. 28), взаимно связаны, трудно себе представить, чтобы диссоциация органической молекулы не сказывалась на ее флуоресценции. При экспериментальной проверке такое предположение подтверждается.

Если только молекула хотя бы в слабой степени обладает кислотными или основными свойствами, то флуоресценция ее изменяется с изменением рН раствора, т. е., иными словами, флуоресценция иона кислоты и самой недиссоциированной молекулы кислоты различны; равным образом различны флуоресценция недиссоциированного основания и его иона. Если мы имеем в водном растворе соль слабого органического основания или слабой органической кислоты, то соль при тех малых концентрациях, с которыми ведутся флуоресцентные наблюдения, подвергается гидролизу, и, таким образом, мы наблюдаем суммарную флуоресценцию и ионов, и недиссоциированных молекул кислоты или основания. Иллюстрируем это на конкретном примере слабого органического основания — акридина. Если приготовить ряд растворов акридина одинаковой концентрации, но с убывающей кислотностью, то цвет флуоресценции постепенно изменится от ясно-зеленого в кислом растворе до фиолетового в щелочном (зеленым светом флуоресцирует ион акридина, фиолетовым — недиссоциированное основание). На рис. 15 даны спектры флуоресценции растворов акридина, приготовленных прибавлением 1 мл спиртового раствора акридина к 20 мл кислоты, с указанным рН. Кривые были получены на монохроматоре УМ-2 при возбуждении спектров лампой ПРК-4 с ультрафиолетовым светофильтром. Интенсивность измерялась с помощью

*) Под «концентрацией водородных ионов» подразумевают концентрацию свободных, не связанных с анионом водородных ионов; ее отрицательный десятичный логарифм обозначают рН. Как известно, степень диссоциации химически чистой воды чрезвычайно мала, следовательно, ничтожна в ней и концентрация свободных водородных ионов; в литре воды содержится примерно 10^{-7} грамм-эквивалентов свободных Н-ионов и, конечно, столько же грамм-эквивалентов OH' -ионов: $\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}' + \text{OH}'$; для воды (при температуре 22°C) $\text{pH} = 7$. Произведение концентрации водородных и гидроксильных ионов в воде для каждой температуры — величина постоянная: $[\text{H}'] [\text{OH}'] = 10^{-14}$ (22°C). Поэтому в щелочных растворах, т. е. содержащих избыток OH' -ионов, концентрация Н'-ионов $< 10^{-7}$ и, следовательно, $\text{pH} > 7$, а в кислых растворах наоборот: $\text{pH} < 7$.

ФЭУ-27 и зеркального гальванометра*). Благодаря повышенной чувствительности глаза к зеленой части спектра различие спектров при визуальном наблюдении выявляется еще много резче — цвет флуоресценции раствора переходит из зеленого в фиолетовый. При сравнении кривых (рис. 15) отчетливо видно нарастание спектра с коротковолнового конца при увеличении рН.

Одновременно с изменением флуоресценции изменяется и абсорбция растворов акридина. Благодаря этому наблюдаемая зависимость спектра флуоресценции от рН раствора становится еще заметнее. В самом деле,

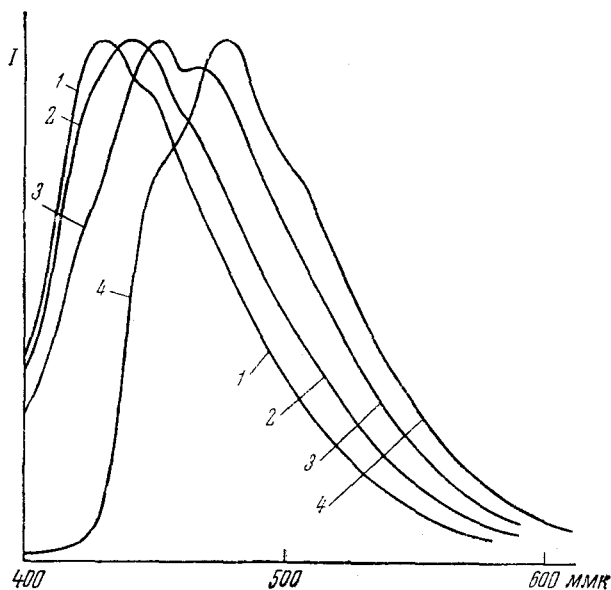


Рис. 15. Изменение спектра флуоресценции акридина в зависимости от рН:

1 — рН=7; 2 — рН=6; 3 — рН=5; 4 — рН=4; концентрация акридина во всех растворах $4 \cdot 10^{-6}$ г/мл.

если бы при длине волны возбуждающего света ионы вещества обладали большей абсорбционной способностью, нежели его молекулы, то растворы, в которых вещество диссоциировано, светились бы ярче даже в том случае, если бы флуоресцентные свойства (флуоресцентный выход) молекул и ионов были одинаковы.

С точки зрения аналитика безразлично, чем обуславливается изменение флуоресценции — тем ли, что благодаря изменению спектра абсорбции поглощается меньше света, или тем, что снижается выход флуоресценции, т. е. из числа молекул, поглотивших световую энергию, меньшая их доля отдает поглощенную энергию в виде флуоресцентного излучения. Важен самый факт, что при тождественных условиях освещения и наблюдения флуоресценция двух растворов с одинаковой концентрацией флуоресцирующего вещества может оказаться различной. На рис. 16 показаны

*) Пользуюсь случаем принести благодарность В. В. Осико за измерение спектров флуоресценции и поглощения растворов акридина при разных рН (рис. 15 и 16).

спектры абсорбции растворов акридина одной и той же концентрации, но с разными рН. Кривые измерялись на кварцевом монохроматоре с помощью ФЭУ-19 и микроамперметра М-95.

Таким образом, чтобы однозначно судить по флуоресценции о присутствии и тем более о концентрации акридина, необходимо работать с растворами, обладающими достаточной кислотностью или щелочностью, такой, чтобы изменение концентрации водородных ионов уже не влияло; или же применением буфированных растворов надо гарантировать себя от возможности случайных изменений рН.

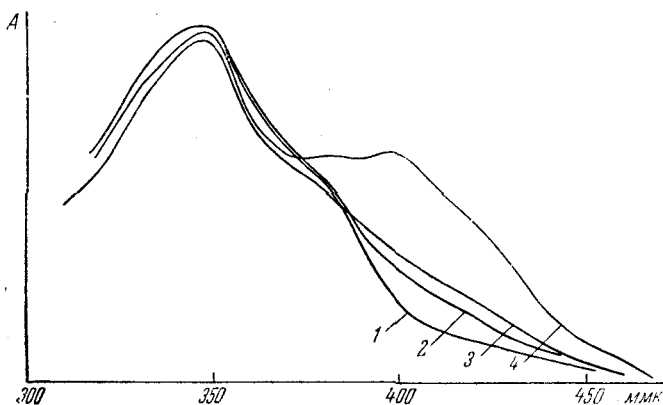


Рис. 16. Изменение спектра абсорбции акридина в зависимости от рН:

1 — рН=7; 2 — рН=6; 3 — рН=5; 4 — рН=4.

Несколько более сложную, но по существу аналогичную картину представляют и двухосновные основания, например хинин. У хинина мы должны различать флуоресценцию двухосновного иона (голубое свечение) и одноосновного иона (фиолетовое свечение) и, кроме того, иметь в виду, что недиссоциированное основание не флуоресцирует. Эйзенбрандт спектрофотометрически промерил кривую изменения интенсивности флуоресценции для растворов хинина при различных значениях рН и показал, что, принимая интенсивность флуоресценции пропорциональной концентрации светящихся ионов, можно по флуоресценции вычислить константу диссоциации, совершенно аналогично тому, как это делается в отношении окрашенных индикаторов.

Абсорбция растворов хинина, как и в случае акридина, с уменьшением рН смещается в видимую часть спектра.

Из приведенных данных следует, что при применении методов люминесцентного анализа к двухосновным соединениям типа хинина должны быть соблюдены те же условия, какие были указаны в отношении акридина—без этого мы не можем рассчитывать на получение однозначного решения аналитической задачи.

Сказанное об основании может быть в полной мере отнесено и к кислотам. Если из слабой кислоты приготовить ряд растворов с возрастающей кислотностью, то флуоресценция их будет закономерно изменяться: в кислых растворах мы наблюдаем флуоресценцию недиссоциированных молекул кислоты, в щелочных — флуоресценцию ионов кислоты, в промежуточных — сумму обеих флуоресценций с преобладанием той или иной

из них, в зависимости от раствора. Так, в водных растворах флуоресцеина, представляющего слабую кислоту, типичная яркая флуоресценция желто-зеленого цвета обнаруживается только в щелочном растворе, когда светится анион кислоты. С понижением щелочности раствора свечение становится слабее. Флуоресцеин содержит помимо карбоксильной группы COOH еще фенольные группы OH ; в кислом растворе ему иногда приписывают образование положительного иона. Кроме того, в сернокислотных растворах его пириновое кольцо вступает, быть может, в непрочную связь с молекулами серной кислоты. Поэтому в растворах флуоресцеина с различной степенью кислотности и щелочности изменения спектров как

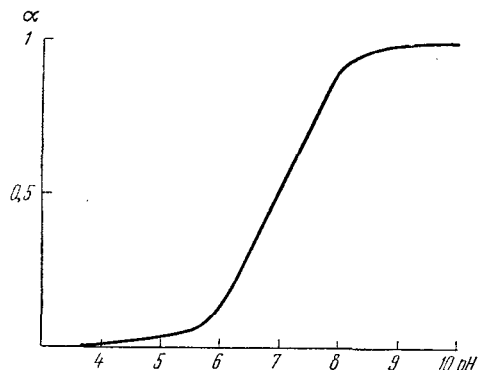


Рис. 17. Зависимость от pH степени диссоциации (α) и соответственно интенсивности окраски индикатора *p*-нитрофенола (кривая Михаэлиса).

абсорбции, так и флуоресценции носят более сложный и запутанный характер. Мы не находим здесь той строгой непрерывности в изменениях спектров с изменением pH, какую наблюдали в разобранных выше случаях акридина и хинина (например, флуоресценция раствора, приготовленного на буфере с $\text{pH} = 3,6$, не является промежуточной между флуоресценциями двух смежных растворов).

В связи со сказанным естественно возникает вопрос: каким образом могло успешно проводиться изучение спектров флуоресценции растворов без учета столь решающего фактора, как влияние концентрации водородных ионов? Ответ ясен. Зависимость флуоресценции от pH раствора выражается кривыми такого же типа, как кривые для цветных индикаторов (рис. 17), т. е. вначале наблюдается медленный рост, затем, после крутого подъема, кривые приходят к насыщению. Поэтому влияние концентрации водородных ионов будет невелико, если наблюдать свечение таких растворов, для которых pH соответствует интервалу значений, где кривая идет почти параллельно оси абсцисс, т. е. молекулы не диссоциированы или диссоциированы полностью [1].

При изучении в аналитических целях растворов, флуоресценция которых изменяется от прибавления кислот и щелочей, необходимо прежде всего дать себе отчет, влияют ли на их флуоресценцию незначительные колебания концентрации водородных ионов, и при положительном ответе надлежит парализовать это влияние путем прибавления кислоты или щелочи. Однако это возможно не всегда, так как во многих случаях самими условиями анализа вызывается необходимость вести наблюдения при определенном pH; применение буферных растворов помогает в этом случае избежать ошибку, которую могло бы вызвать случайное изменение концентрации водородных ионов. Поясним сказанное на конкретном примере: при определении содержания озона в воздухе флуоресцентным методом, по измеряемому нарастанию концентрации акридина в растворе, анализ нельзя вести в щелочном растворе, так как в этих условиях слишком слаба флуоресценция акридина; не годится и кислая среда, так как при малых pH дигидроакридин, окисляемый озоном в акридин, недостаточно индифферентен в отношении кислорода. При применении буфированного

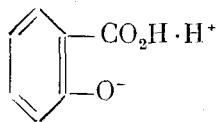
реактива удастся избежать тех ошибок, которые могли бы быть вызваны изменением кислотности раствора.

Только при соблюдении этих простых правил в отношении условий наблюдения флуоресценции анализируемого раствора можно прийти к определенным сравнимым результатам.

На первый взгляд кажется странным, почему требование учитывать рН раствора приобретает столь существенное значение при применении методов люминесцентного анализа. Казалось бы, что, поскольку абсорбция ионов и недиссоциированных молекул различна, изменение рН раствора должно было бы в равной мере сказываться и на наблюдениях спектров абсорбции. Однако, если учесть специфичную особенность методов флуоресцентного анализа, а именно то, что наблюдения ведут в растворах с исключительно малой концентрацией флуоресцирующего вещества, то станет понятной разница условий. В самом деле, содержание флуоресцирующих веществ в наблюдаемых растворах того же порядка, что и содержание индикаторов в растворах, служащих для определения рН. Поэтому понятно, что незначительные изменения рН должны сказываться на диссоциации и гидролизе наблюдаемых флуоресцирующих соединений несравненно сильнее, чем это имеет место в растворах с такими концентрациями, какие обычно применяются при измерениях абсорбции.

Таким образом, своеобразие флуоресцентных наблюдений приводит к необходимости строго соблюдать определенные правила, специфичные для флуоресцентного анализа.

В дополнение к сказанному отметим, что, как показано Ферстером [2], сила связи водородного иона (протона) с анионом в возбужденном состоянии может быть и иной, чем в невозбужденном, соответственно и константа диссоциации, а следовательно и область рН-перехода, устанавливаемая по изменению люминесценции раствора, может оказаться отличной от определяемой по абсорбции. Это показано Ферстером на ряде соединений — окси-, amino- и сульфопроизводных нафталина*). В работе 1955 г. [3] отмечается, что у салициловой кислоты константа диссоциации фенольной группы ОН в возбужденном состоянии много больше, а группы карбоксильной меньше, чем в невозбужденном состоянии, и в результате в возбужденном состоянии карбоксильная группа может, по-видимому, играть роль акцептора протона с образованием



2. Влияние растворителя на флуоресценцию растворенного вещества

Мы находим в литературе описание ряда случаев, когда цвет флуоресценции вещества резко различен в зависимости от применяемых растворителей и когда путем их подбора удавалось изменять цвет флуоресценции вещества и даже наблюдать целую гамму цветов. Эти случаи привлекали внимание исследователей, интересовавшихся явлением флуоресценции,

*) В работе Деркачевой [18] показано, что для 9 исследованных гидроксипроизводных нафталина константы диссоциации в возбужденном состоянии на 5—7 порядков превышают константы диссоциации в основном состоянии.

и в результате господствовала точка зрения, что флуоресценция вещества — свойство мало характерное, существенно зависящее от растворителя.

Если бы это было действительно так, то применение флуоресцентных наблюдений для целей химического анализа оказалось бы весьма затруднительным и, быть может, даже невозможным. По счастью, изменение спектра флуоресценции в зависимости от растворителя — явление далеко не столь общее; указанная выше точка зрения в значительной степени обуславливается недоразумением.

При рассмотрении влияния растворителя на спектры флуоресценции мы должны различать два типа органических соединений: углеводороды и органические вещества, в состав которых входит кислород или азот, которые имеют кислотный или основной характер и обладают дипольным моментом.

Влиянию растворителя на флуоресценцию углеводородов, т. е. флуоресцирующих соединений первого типа, посвящено большое число исследований. Оно детально изучено в отношении спектров как абсорбции, так и флуоресценции для следующих углеводородов: флуорена [4], нафтацена [4], перилена [4], трибензилдекациклена (в 26 растворителях) [5], флуороциклена [6] и ряда полиенов [6], т. е. соединений типа $C_6H_5(CH=CH)_nC_6H_5$.

Исследователи, изучавшие перечисленные вещества, приходят к одному и тому же выводу, а именно: хотя спектры абсорбции и флуоресценции с увеличением показателя преломления растворителя смещаются в сторону длинных волн, однако структура спектра при этом не изменяется и самое смещение чрезвычайно мало. Даже в таком растворителе, как сероуглерод (показатель преломления $n = 1,63$), оно не превышало нескольких десятков миллимикрон.

Таблица 1

Положение полос флуоресценции и абсорбции дифенилоктатриена в различных растворителях

Флуоресценция	Абсорбция	Растворитель	n_D^{20}
		Метиловый спирт	1,330
		Этиловый спирт	1,362
		Муравьиная кислота	1,371
		Гексан	1,375
		Оливковое масло	1,468
		Ксилол	1,500
		Пиридин	1,509
		Сероуглерод	1,631

Примечание. Символ n_D^{20} в последней графе таблицы обозначает показатель преломления для D (желтой) линии натрия при температуре $20^\circ C$.

Таблица 1 и кривые на рис. 18, взятые из работы Гауссера и Куна [7], дают наглядное представление о степени постоянства спектров абсорбции и флуоресценции полиенов в различных растворителях. Как видно, спектры флуоресценции смещены в меньшей мере, чем спектры абсорбции.

Перечисленные соединения по существу охватывают все типы люминесцирующих углеводов, и потому представляется вполне законным распространить найденные экспериментальные данные на все углеводороды вообще. Лично нам не встречалось литературных данных, противоречащих этому утверждению. Наоборот, оно находит свое косвенное подтверждение в ряде работ.

Итак, для всех растворителей, кроме сероуглерода, обычно не применяемого, вышеуказанные смещения спектров флуоресценции малы и лежат за пределами погрешности флуоресцентных наблюдений, осуще-

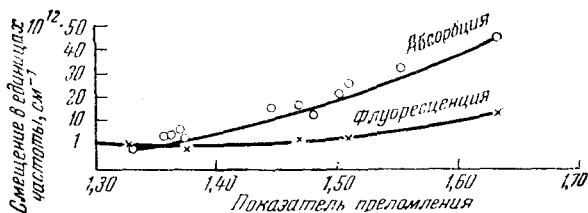


Рис. 18. Смещение максимумов спектров флуоресценции и абсорбции дифенилполиенов по сравнению с их раствором в гексане, вызываемое изменением показателя преломления растворителя.

ствляемых с аналитической целью; в худшем случае они с ними соизмеримы. Поэтому можно считать, что спектры флуоресценции соединений первого типа, т. е. углеводов, почти не изменяются при перемене растворителя.

Сложнее обстоит дело с соединениями второго типа. В отношении их приходится считаться с рядом осложняющих моментов и в первую очередь с неодинаковой степенью диссоциации и гидролиза этих веществ в различных растворителях.

Во многих случаях противоречивость данных относительно флуоресценции того или иного соединения обуславливается неправильным использованием результатов наблюдений. Если бы флуоресценция вещества описывалась отдельно для ионов и для недиссоциированных молекул, то значительная доля этой неопределенности отпала бы. Например, обычно указывают, что цвет флуоресценции акридина сине-фиолетовый в спиртовом растворе и зеленый — в сернокислотном. Между тем, как показывают приведенные выше спектры (рис. 15), акридин в водно-щелочном растворе флуоресцирует фиолетовым светом, типичным для спиртового раствора, а цвет флуоресценции, характерный для сернокислотного раствора, можно наблюдать и в спиртовом растворе, если последний подкислить. На этом примере ясно видно, что разница в цвете флуоресценции, приписываемая влиянию растворителя, может обуславливаться им на самом деле только косвенно, решающим же являясь изменение соотношения концентрации ионов (флуоресценция зеленым светом) и недиссоциированных молекул (фиолетовый цвет флуоресценции).

При рассмотрении влияния на спектры флуоресценции концентрации водородных ионов мы уже подчеркнули необходимость вести флуорес-

центные наблюдения в строго определенных условиях и наблюдать флуоресценцию либо молекул, либо ионов, либо тех и других, но при строго определенном количественном соотношении (в буфированных растворах).

Совершенно ясно, что соблюдение этого же правила позволит элиминировать кажущееся влияние растворителя, поскольку оно фактически обуславливается вышеуказанным различием цвета флуоресценции ионов и молекул. Однако было бы, разумеется, неправильно думать, что изменение спектров флуоресценции при замене одного растворителя другим обуславливается единственно только указанными колебаниями в степени диссоциации и гидролиза флуоресцирующих молекул.

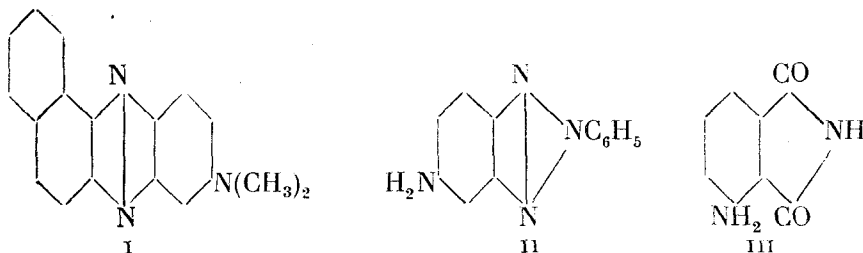
Между молекулами растворителя и растворенного вещества существует, как хорошо известно, тесное взаимодействие; у некоторых веществ оно может вызывать изменение спектров флуоресценции.

Согласно современным представлениям, межмолекулярные силы в растворах могут быть сведены к следующим типам [8]: 1) взаимодействие между диполями нормальными и наведенными (дебайевскими); 2) взаимодействие между электронными системами молекул — силы Лондона и 3) химическое взаимодействие. Так, например, молекулы, содержащие гидроксильные, карбоксильные и аминогруппы, склонны к особому типу ассоциации, а именно к ассоциации посредством водородных связей, проявляющихся между валентно насыщенными молекулами.

Что касается первых двух типов взаимодействия — междипольного и осуществляемого силами Лондона, то они, конечно, имеют место и в растворах углеводородов. Именно ими объясняют вышеописанные незначительные смещения спектров флуоресценции. Однако, как мы видели, изменения спектров настолько малы, что при проведении флуоресцентных наблюдений в целях анализа ими можно, как правило, пренебрегать. Исходя из общетеоретических соображений, можно предполагать, что растворы органических соединений, которые мы отнесли ко второй группе, не отличаются в этом отношении от растворов соединений первой группы — углеводородов.

Причину резко выраженного влияния растворителя, наблюдаемого для некоторых соединений этой второй группы, надо искать в силах взаимодействия третьего типа, т. е. в химическом взаимодействии, ведущем к образованию ассоциированных молекул. Если это так, то тем самым вносится значительная доля ясности в самый вопрос о влиянии растворителя. Обычно мы можем предвидеть возможность взаимодействия растворенного вещества с растворителем и вытекающую отсюда зависимость флуоресценции от растворителя. Поясним это конкретным примером. Как известно, пироны вступают в химическое взаимодействие с молекулами серной кислоты. Поэтому ясно, что для этого класса соединений флуоресценция не останется без изменения при замене органического растворителя серной кислотой. В самом деле, отличие спектров флуоресценции сернокислотных растворов производных пирона (2,6-дифенилпирона), хромона и ксантона по сравнению с их растворами в органических растворителях фигурирует в литературе как одна из обычных иллюстраций влияния растворителя. Из трех других веществ, для которых в свое время Кауфман и Керман [9] обнаружили резкое изменение цвета флуоресценции в зависимости от растворителя и на которые до настоящего времени всегда ссылаются для доказательства зависимости спектра флуоресценции от растворителя, одно принадлежит к производным феназина, именно диметилнафтейродин (I), второе — аминафенилфентриазол (II); третье является аминопроизводным имида фталевой кислоты (3-амино-фталоимид) (III),

т. е. для всех этих веществ взаимодействие с растворителем вполне естественно.



В работе 1954 г. (см. стр. 371, [56]) отмечается различие цвета люминесценции паранитродиметиламинотильбена в пиридине (красное свечение) по сравнению с растворами в циклогексане и в четыреххлористом угле-роде (зеленовато-голубое свечение). Характерно, что и в этом случае структура люминесцирующей молекулы такова, что есть все основания ожидать ее взаимодействия с таким растворителем, как пиридин.

Нет надобности конкретизировать характер взаимодействия указанных веществ с молекулами растворителя: самый факт, что вещества, для которых цвет флуоресценции в разных растворителях неодинаков, обладают именно такой химической структурой, является показательным и подтверждающим вышеизложенную точку зрения.

Резюмируя вышесказанное, следует признать, что при использовании наблюдений флуоресценции в целях анализа выбор растворителя в отдельных случаях может иметь существенное значение; однако для большинства соединений влияние растворителя на флуоресценцию не велико и не является препятствием к использованию флуоресцентных наблюдений для целей химического анализа.

3. Изменение флуоресценции вещества при его переходе в раствор

При рассмотрении флуоресценции твердых веществ следует различать два принципиально несходных случая: флуоресценцию индивидуальных химических соединений в твердом агрегатном состоянии и флуоресценцию многокомпонентных систем, представляющих в большинстве случаев кристаллические вещества с ничтожно малыми примесями посторонних ионов-активаторов. Типичный пример последних — обычные кристалло-фосфоры, например сернистый цинк, активированный медью ($ZnS \cdot Cu$). Флуоресцентные свойства этих систем определяются энергетическими уровнями всей кристаллической решетки; с переходом в раствор способность флуоресцировать, естественно, утрачивается. В настоящем разделе речь идет о флуоресценции индивидуальных, химически чистых органических соединений.

При использовании флуоресцентных наблюдений для аналитических целей существенно знать, изменяется ли и как изменяется флуоресценция вещества при его растворении. На этот вопрос при современном состоянии наших знаний нельзя дать определенного ответа. Однако при сопоставлении экспериментальных данных напрашивается определенный вывод. Шипловский [10] изучал спектры антрацена в различных агрегатных состояниях. По его наблюдениям, флуоресценция смещается в сторону коротких волн при переходе от кристаллов к раствору и затем к газообразному состоянию.

Сехан [4] в отношении исследованных им многоядерных углеводов — флуорена, нафтацена и перилена — тоже констатирует смещение спектров к фиолетовому концу при переходе от твердого состояния к раствору. Смещение, по его данным, очень мало, того же порядка, как при переходе от одного растворителя к другому. Это же правило подтверждено Гауссером [7] и Куном в отношении изучавшихся ими полиенов. В их работе сравниваются кривые распределения энергии в спектре флуоресценции дифенилбутадиена кристаллического и в растворе; смещение спектра твердого вещества по сравнению с раствором оценивается ими в 45 *ммк*. Авторы указывают, что спектры флуоресценции других кристаллических полиенов ведут себя аналогично. В отношении их авторы ограничиваются наблюдением изменения цвета свечения, так как при фотографировании поверхность кристаллов загрязнялась примесями, изменяющими спектры флуоресценции. Эти загрязнения образуются, как указывают авторы, в результате неизбежного при фотографировании длительного освещения.

Приводим полностью таблицу, данную названными авторами для иллюстрации полученных ими результатов (табл. 2).

Таблица 2

Изменение цвета флуоресценции полиенов при переходе от кристаллов к раствору

Полиен $C_6H_5(CH=CH)_n \cdot C_6H_5$	Флуоресценция	
	в кристаллах	в растворе
$n=1$	Сине-фиолетовая	Фиолетовая
$n=2$	Небесно-синяя	Сине-фиолетовая
$n=3$	Желто-зеленая	Небесно-синяя
$n=4$	Оранжевая, слабая	Желто-зеленая
$n=5$	Незаметна	Желтая, слабая
$n=6$	»	Красно-желтая, слабая
$n=7$	»	Красная, слабая

Помимо работ, специально посвященных изучению изменений спектра флуоресценции вещества при его переходе из твердого состояния в раствор, в литературе имеются данные относительно спектров флуоресценции в твердом состоянии и в растворе для следующих веществ: флуороциклена, биацена, бензофлавина, родулина желтого и триафлавина. Сравнение имеющихся описаний их спектров приводит к тому же выводу.

В *Handbuch der Spektroskopie* Кайзера [11] приведен список большого числа флуоресцирующих соединений, а для некоторых из них цвет флуоресценции указан как в растворенном, так и в кристаллическом состояниях. Оказывается, только в одном случае — у щелочной соли хинонгидрокарбоновой кислоты — цвет водного раствора по сравнению с кристаллами смещен в сторону не коротких волн, а, наоборот, длинных: кристаллы флуоресцируют голубым светом, водный раствор — зеленым. Однако сама кислота флуоресцирует зеленым светом в водном растворе и голубым — в органических растворителях (спирте, эфире). Естественно напрашивается мысль, что изменение цвета флуоресценции обусловливается в данном случае ионизацией соли в водном растворе.

Хризанилин представляет на первый взгляд второе исключение: он флуоресцирует только в растворе. Однако, если учесть, что флуорес-

ценция раствора простирается за 680 *мк*, то становится вероятным, что данное исключение является по существу подтверждением выведенного правила, согласно которому вещества, флуоресцирующие в растворе красным светом, должны испускать в кристаллическом состоянии инфракрасное свечение, т. е. казаться на глаз нефлуоресцирующими. Именно этим объясняют Гауссер и его сотрудники отсутствие флуоресценции у кристаллических полиенов с $n=5, 6, 7$ (табл. 2).

Как ясно из сказанного, те вещества, которые в твердом состоянии флуоресцируют фиолетовым светом, в растворе должны быть лишены флуоресценции в видимой части спектра.

Сведения, взятые из списка флуоресцирующих веществ Кайзера, не могут претендовать на полную достоверность; все же единообразное поведение всех тех веществ, для которых у Кайзера дан цвет флуоресценции в обоих состояниях — и в твердом и в растворе, — показательно и не может быть случайным.

Следует подчеркнуть, что недочет загрязняющих примесей является обычным источником ошибок как при описании флуоресценции веществ в твердом состоянии, так и при констатации утраты веществом способности флуоресцировать при переходе в растворенное состояние. Поясним конкретными примерами. Бензойная кислота нередко описывается как флуоресцирующая в твердом состоянии сине-зеленым светом, между тем уже трехкратной перекристаллизацией из горячей воды нам удавалось значительно снизить эту флуоресценцию и одновременно получать ярко флуоресцирующие маточные растворы.

Гайтингер [12] сообщает, что твердая стеариновая кислота флуоресцирует розовым светом, но что путем перекристаллизации ему удалось получить препарат с флуоресценцией синего цвета; препарат Кальбаума, который был в нашем распоряжении, флуоресцировал сине-ватым светом без всякой перекристаллизации. Ясно, что розовая флуоресценция, приводимая и другими авторами, характерна не для самой кислоты.

Хорошо известно, насколько трудно избавиться от флуоресценции жидких веществ, не обладающих способностью флуоресцировать в идеально чистом виде, например, спирта, глицерина, ацетона.

В твердом состоянии загрязняющие примеси нередко сконцентрированы на поверхности кристалла, так как адсорбируются из раствора или образуются при фотохимической реакции; ясно, что благодаря этому они должны искажать картину флуоресценции вещества в твердом состоянии еще сильнее, чем в растворе. Отсюда противоречивость данных отдельных авторов относительно цвета флуоресценции кристаллических препаратов.

За последние годы в связи с применением органических веществ в кристаллическом состоянии в качестве сцинтилляторов детально изучены спектры люминесценции сравнительно большого числа кристаллических органических соединений; некоторые из них, типовые, приведены в приложении II.

Итак, подводя итог сказанному, можно вывести следующее правило: в большинстве случаев спектр флуоресценции вещества при его растворении немного смещается в сторону более коротких длин волн; способность флуоресцировать при растворении вещества, как правило, не утрачивается (само собой очевидно, что сказанное справедливо только при условии отсутствия химического взаимодействия между молекулами растворенного вещества и растворителя).

В заключение отметим, что флуоресценция веществ в жидком агрегатном состоянии искажается высокой концентрацией флуоресцирующих молекул как в результате концентрационного тушения, так и вследствие реабсорбции излучения молекулами вещества. Поэтому наблюдения люминесценции концентрированных растворов или чистых жидкостей являются нецелесообразными.

4. Влияние концентрации и степени дисперсности

Влиянию концентрации на интенсивность свечения и на спектры флуоресценции растворенного вещества уделялось много внимания со стороны физиков; вопрос этот детально изучен, и в нем достигнута полная ясность. Тем не менее в работах по люминесцентному анализу недоучет влияния концентрации флуоресцирующего вещества обуславливает нередко существенные недоразумения. Можно смело сказать, что во многих случаях именно здесь надо искать причину расхождений указаний отдельных авторов относительно цвета флуоресценции растворов одного и того же вещества. Влияние концентрации может сказываться в двух направлениях: в концентрационном тушении и во вторичной абсорбции. Оба явления уже рассмотрены в главе II.

Как мы видели, интенсивность свечения пропорциональна концентрации флуоресцирующего вещества только при очень малом его содержании; начиная с некоторой критической концентрации порядка 10^{-4} г/мл, имеет место тушение флуоресценции молекулами самого флуоресцирующего вещества. Поэтому ясно, что поскольку количественные определения флуоресцентным методом сводятся, в конечном счете, к нахождению концентрации по интенсивности свечения, необходимо вести соответствующие опыты в чрезвычайно разбавленных растворах. Однако, как ясно из вышесказанного, и для целей качественного флуоресцентного анализа концентрация наблюдаемого раствора является далеко не безразличной.

Часто приходится иметь дело с такими жидкостями, концентрация которых неизвестна. Чрезмерно большое содержание флуоресцирующего вещества в таких растворах легко распознается по мутному свечению у самой поверхности сосуда, напоминающему опалесценцию коллоидных растворов*). Это обстоятельство обычно не учитывается практиками. Например, флуоресценция биологических жидкостей, как кровяной сыворотки, урины и т. п., описывается для жидкости в целом. Между тем достаточно капнуть ими в воду, чтобы наблюдать, как ярко разгорается при этом свечение раствора. Само собой понятно, что флуоресцентные наблюдения надо вести именно на таких разбавленных растворах.

Для того чтобы ориентироваться в том, насколько надлежит разбавить изучаемую жидкость, можно рекомендовать следующий прием: в открытый стаканчик с растворителем, освещенным сверху ультрафиолетовым светом, по каплям прибавляют исследуемую жидкость. В момент попадания в растворитель первых капель они ярко разгораются, а затем благодаря диффузии становится видимым только более слабое равномерное свечение по всему сосуду. Разгорание в момент прибавления становится все слабее по мере увеличения числа прибавленных капель и, наконец, прекращается, когда достигнута концентрация, отвечающая максимальной яркости свечения. После этого осторожным разбавлением раствора необ-

*) Опалесценция — рассеяние падающего света мелкодисперсной средой — иногда ошибочно воспринимается как свечение.

ходимо убедиться в неизменяемости цвета флуоресценции при уменьшении концентрации. Этим путем легко предотвратить ошибки, которые обуславливаются влиянием концентрации раствора на цвет его флуоресценции. Как мы видели, в растворах наблюдается вторичная абсорбция флуоресцентного излучения самим же флуоресцирующим веществом в той области длин волн, где спектр его абсорбции и спектр флуоресценции взаимно перекрываются. Следовательно, при больших концентрациях флуоресцирующего вещества коротковолновая часть его излучения может оказаться ослабленной и соответственно цвет флуоресценции измененным. При разбавлении раствора влияние вторичной абсорбции ослабевает, и соответственно флуоресценция «синеет». Например, флуоресценция акридина в кислой среде кажется тем зеленее, чем больше его концентрация; разбавленные растворы флуоресцируют сине-зеленым светом.

Таким образом, при осуществлении качественного флуоресцентного анализа растворов, обладающих абсорбцией в видимой части спектра, т. е. окрашенных растворов, надо помнить: если концентрация раствора недостаточно мала, то флуоресценция может оказаться измененной вследствие описанной выше реабсорбции флуоресцентного излучения самим флуоресцирующим веществом.

Наконец, в связи со сказанным, заслуживает особого внимания следующее обстоятельство: в некоторых случаях флуоресценция относительно концентрированных растворов веществ ослабляется и даже исчезает при их разбавлении до концентрации, являющейся нормальной для наблюдений флуоресценции. Причина этого лежит в том, что свечение этих растворов обуславливается не самим веществом, а ничтожно малыми примесями; при разбавлении до концентрации, удобной для наблюдений флуоресценции интересующего вещества, содержание в растворе примесей настолько снижается, что свечение раствора становится незаметным.

Таким образом, можно судить о присутствии в веществе люминесцирующих примесей по исчезновению флуоресценции при нормальном разведении раствора.

Обзор факторов, влияющих на люминесценцию растворов, будет неполным, если мы не примем во внимание, что свечение раствора может находиться в зависимости и от степени дисперсности флуоресцирующего вещества в нем. Так, Левшин [13] показал, что с увеличением концентрации родамина 6 Ж в пределах от $3 \cdot 10^{-6}$ до $1 \cdot 10^{-3}$ г/мл выход флуоресценции падает с 1,00 до 0,17; одновременно резко деформируется спектр абсорбции. Левшин установил, что в этом случае повышение температуры снижает концентрационное тушение и одновременно уменьшается деформация спектров абсорбции: они становятся все более похожими на спектры абсорбции разбавленных растворов. Левшин показал, что найденные им экспериментальные данные хорошо могут быть объяснены появлением в концентрированных растворах ассоциированных молекул; на основании измеренных им коэффициентов абсорбции и флуоресцентных выходов он смог даже вычислить степень ассоциации в изучавшихся им растворах.

Итак, в отношении красителя родамина установлен факт снижения интенсивности флуоресценции в результате ассоциации молекул.

С другой стороны, из сообщения Шейбе [14] и его сотрудников мы узнаем о противоположном эффекте. Названные авторы наблюдали в водных растворах красителя — псевдоизоцианина не только появление новой полосы абсорбции, но и разгорание флуоресценции, шедшее параллельно с увеличением концентрации красителя. Вязкость раствора при этом резко возрастала; при концентрации 10^{-2} г/мл вся масса застывала.

При нагревании до 30° С раствор становится снова подвижным, одновременно пропадают и флуоресценция и новая полоса абсорбции. Авторы объясняют наблюдаемое явление тем, что частицы воды окружают ионогенную часть молекулы красителя, остающиеся же свободными органические цепочки красителя соединяются в полимеры с измененной электронной структурой.

Таким образом, по данным Шейбе и его сотрудников, в случае псевдоиоцианина полимеризация обуславливает появление флуоресценции. Дальнейшие интересные данные о взаимосвязи между люминесцентными свойствами молекул и их ассоциацией получены в работах Левшина с сотрудниками [15—17] и др.

Однако в настоящее время еще отсутствуют данные, которые позволяли бы предсказывать, скажется ли изменение степени дисперсности, и как именно, на флуоресценции того или иного раствора.

ЛИТЕРАТУРА к гл. III

1. М. Константинова-Шлезингер, Труды Физ. ин-та АН СССР 2, вып. 2—3, 18 (1942).
2. Th. Forster, Zs. Electrochem. 54, № 7, 531 (1950).
3. A. Weller, Naturwiss. 42, 176 (1955).
4. P. K. Sechan, Trans. Farad. Soc. 32, 689 (1936).
5. P. Margulius, Acta Phys. Pol. 3, 373 (1934).
6. M. Markowska, Acta Phys. Pol. 2, 357 (1934).
7. K. W. Hausser, R. u. E. Kuhn, Zs. phys. Chem. 29, 439 (1935).
8. Фарадеевская дискуссия, Trans. Farad. Soc. 33, № 189 (1937), F. London, стр. 8; J. H. Hildebrand, стр. 144.
9. F. Kehrman, Ber. dt. Ch. Ges. 25, 900 (1892); H. Kaufmann u. A. Beuswanger, Zs. phys. Chem. 50, 350 (1905).
10. А. А. Шишловский, ДАН СССР 15, 29 (1937).
11. H. Kauser, Handbuch der Spektroskopie, IV, 1908.
12. M. Haitinger, Die Fluoreszenzanalyse in der Mikrochemie, 1937, Wien—Leipzig.
13. В. Л. Левшин, Acta phys.-chim. USSR 1, 685 (1935); ДАН СССР 2, 405 (1934).
14. G. Scheibe, L. Randler, H. Ecker, Naturwiss. 25, 75 (1937).
15. В. Л. Левшин, Изв. АН СССР, сер. физич. 20, № 4, 397 (1956).
16. Л. Д. Деркачева, Изв. АН СССР, сер. физич. 20, № 4, 410 (1956).
17. В. Л. Левшин, Е. Г. Баранова, Оптика и спектроскопия 6, вып. 1, 55 (1959).
18. Л. Д. Деркачева, Оптика и спектроскопия 9, вып. 2, 209 (1960).

ГЛАВА IV

ЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ ВЕЩЕСТВ И ИХ ХИМИЧЕСКАЯ СТРУКТУРА

Чтобы использовать наблюдения люминесценции для практических целей, а тем более для химического анализа, существенно знать, какие вещества люминесцируют и каковы их спектры свечения.

Свойство люминесцировать, т. е. отдавать в виде излучения поглощенную энергию, присуще далеко не всем органическим веществам. Уже указывалось, что при абсорбции света поглощенный квант вызывает переход электрона (или электронов) в молекуле на более высокий энергетический уровень. Молекула приходит, как принято говорить, в возбужденное состояние. Если структура молекулы такова, что аккумулированная ею энергия возбуждения не разменивается в течение некоторого промежутка времени (порядка 10^{-8} сек) и по прошествии его спонтанно (самопроизвольно) отдается обратно в виде светового излучения, то мы наблюдаем флуоресценцию вещества. При этом полоса флуоресценции смещена по сравнению с полосой поглощения к длинноволновому концу спектра.

Химики, естественно, в первую очередь интересуют те структурные особенности вещества, которыми обуславливается его способность флуоресцировать. Эти особенности можно свести к двум основным: 1) энергия возбуждения не должна перераспределяться внутри молекулы по колебательным степеням свободы и не должна переходить в химическую, как это имеет место при фотохимических реакциях, и 2) электронная оболочка возбужденной молекулы должна быть настолько устойчивой, чтобы энергия возбуждения не отдавалась молекулам растворителя при соударениях с ними.

К сожалению, до сих пор не удалось вывести конкретных правил, которые позволили бы точно предугадывать в каждом отдельном случае, будет ли флуоресцировать, и в какой именно части спектра, то или иное вещество.

Ряд исследователей пытался найти решение этой задачи путем сопоставления химических структур веществ, обладающих способностью флуоресцировать. Именно с этой целью Лей [1], Штарк [2] и другие [3] сфотографировали спектры флуоресценции большого числа производных бензола и других соединений; в результате они сделали ряд ценных обобщений. Так, они установили, что введение насыщенных алкильных остатков, а равным образом нитро- и карбоксильных групп, смещает спектры флуоресценции бензола и его производных в сторону длинных волн и вместе с тем ослабляет флуоресценцию. Метоксильная группа, гидроксильная, циано- и аминогруппы тоже смещают спектр флуоресценции в сторону длинных волн, но одновременно усиливают флуоресценцию. Замещение

в боковых цепях мало влияет на флуоресценцию. Однако, хотя эти правила и находят подтверждение в ряде случаев, всегда можно привести примеры соединений, для которых они не выполняются. Удивляться этому не приходится, поскольку в настоящее время, согласно новым теоретическим взглядам, абсорбция органических веществ определяется электронной структурой молекулы в целом, и самая постановка вопроса Лея и его современников представляется в настоящее время поэтому неправильной. Новые представления [4] позволили понять, почему во многих случаях хромофоры *) теряют свою индивидуальность, т. е. в спектрах молекул, в состав которых они входят, отсутствуют характерные для них полосы

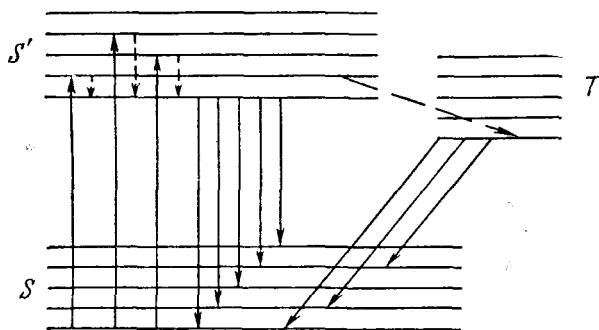


Рис. 19. Схема электронно-колебательных уровней молекулы:

S и S' — синглетные уровни, T — триплетный.

поглощения. Например, как указывает Кортум [5], полоса поглощения NO-группы, характерная для алифатических нитрозосоединений, сохраняется в видимой части спектра нитрозобензола (C_6H_5NO), но исчезает у паранитрозофенола ($p-NO-C_6H_4OH$). Кортум объясняет это тем, что в построении молекулы нитрозофенола участвуют не одна, а две электронмерные формы, и потому не наблюдается локализации возбуждения. От

структуры молекулы в целом должны, очевидно, зависеть и ее люминесцентные свойства. Нецелесообразно поэтому классифицировать радикалы независимо от соединения, в которое они вступают, на батофлорные и гипсофлорные (т. е. смещающие спектры флуоресценции в сторону длинных и, соответственно, коротких длин волн), на ауксо- и диминофлорные (т. е. усиливающие и, соответственно, ослабляющие флуоресценцию). Вполне понятно, что попытки такой классификации могли увенчаться лишь частичным успехом.

В настоящее время общепринято нижеследующее представление о механизме люминесценции органических молекул. При поглощении кванта света молекула переходит из нормального состояния S в возбужденное S' (рис. 19). Оба эти состояния имеют ряд колебательных уровней и переход электрона из нормального состояния в возбужденное может произойти между любыми из этих уровней, конечно при условии, что соответствующие переходы разрешены квантовомеханическими правилами отбора. Обратный же переход, сопровождающийся излучением, происходит с самого низкого электронно-колебательного уровня возбужденного состояния, так как избыток колебательной энергии распределяется по внутренним степеням свободы (по осцилляторам молекулы) или передается среде вследствие соударений с молекулами растворителя.

На рис. 19 прямыми сплошными стрелками обозначены переходы с нижних электронно-колебательных уровней на верхние и с основного

*) Хромофорами называют ненасыщенные химические группы (например NO, CO, $-N=N-$), с присутствием которых в молекуле красителя связывают его цветность.

колебательного уровня возбужденного состояния на уровни невозбужденного состояния. Пунктиром показаны безизлучательные переходы.

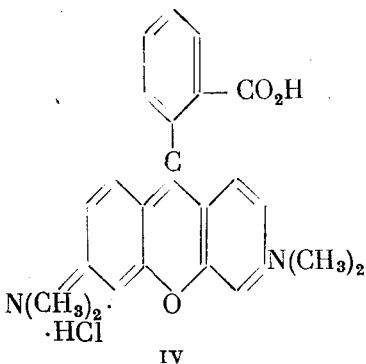
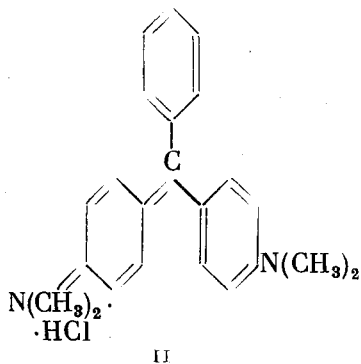
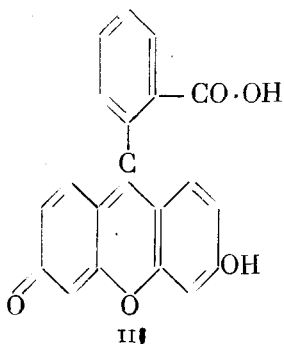
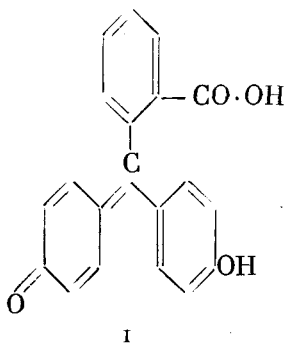
Кроме нормального и возбужденного молекулы могут обладать еще и метастабильным состоянием, характеризующимся значительно большей длительностью жизни. Переходами из этого состояния в нормальное обусловливается фосфоресценция. На рис. 19 косыми пунктирными стрелками обозначены переходы на метастабильный уровень *T*, а косыми сплошными — переходы, соответствующие фосфоресценции.

Конкретных количественных данных для характеристики связи между структурой вещества и его способностью люминесцировать в настоящее время еще привести нельзя.

Однако на основании уже имеющихся экспериментальных данных можно считать, что основным условием, определяющим способность вещества люминесцировать, является «жесткость» структуры молекулы.

Подтверждение этого находим при рассмотрении строения молекул флуоресцирующих веществ, например, при сопоставлении красителей, производных трифенилметана, содержащих и не содержащих пирановое кольцо.

В самом деле, как показывают приведенные ниже формулы, фенолфталеин (I) и малахитовый зеленый (II), не обладающие способностью флуоресцировать, отличаются от типичных флуорогенов — флуоресцеина (III) и родамина (IV) — тем, что в последних фенильные остатки соединены кислородными атомами; их молекулам придана нужная степень жесткости:



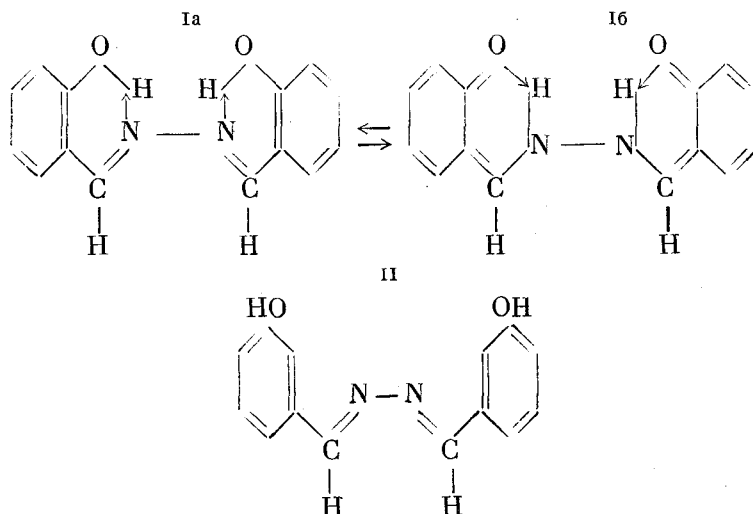
Возможно и иным путем закрепить молекулы красителя и исключить возможность вращения в них фенильных остатков вокруг связи с метановым углеродом, например, путем их адсорбирования на твердых подлож-

как или растворения в вязких средах. Оказывается, что и в этом случае у указанных веществ, как и у аналогичных им, появляется способность флуоресцировать. Это отчетливо видно при просмотре формул флуоресцентных веществ, приведенных в таблице А приложения VI, и сопоставлении строения соединений, приведенных в ней за №№ 15 — 21, со строением остальных.

Подтверждение сказанного находим и в тех выводах, какие были сделаны в результате большой экспериментальной работы по синтезу новых флуоресцентных веществ, проведенной в Германии. В лаборатории «Фарбениндустри» в Людвигсхафене в поисках новых ярко флуоресцирующих красителей было синтезировано, как сообщает Пфлаумер [6], до 2000 веществ; из них отобрано небольшое число особенно ярко флуоресцирующих, которые были выпущены в продажу под названием «люмогенов» (см. приложение V). Полученный таким образом обширный экспериментальный материал позволил выявить, какими особенностями химической структуры обладают вещества, отнесенные к группе люмогенов, т. е. вещества с ярко выраженной способностью флуоресцировать. По Пфлаумеру для структуры молекул люмогенов характерны следующие особенности, проявляющиеся обычно не в одиночку, а в различных сочетаниях:

- 1) наличие цепочек сопряженных связей;
- 2) способность к мезомерии и таутомерии и склонность к образованию орто- и парахиноидных колец;
- 3) образование внутримолекулярных водородных связей (chelatebindungen) (частный случай мезомерии);
- 4) симметричность структуры молекул.

Остановимся на одном из примеров Пфлаумера: в люмогене желто-оранжевом (оксисбензальдазине, формулы I^a и I^b) имеются налицо все четыре признака, но они, очевидно, отсутствуют в метазамещенном изомере (формула II); и действительно, это соединение, как указывает Пфлаумер, не флуоресцирует.



Из сопоставления приведенных структур I и II видно, что образование внутримолекулярных связей влечет за собой закрепление молекулы. Такова же роль сопряженных двойных связей, как это рассмотрено в статье Феофилова [7].

Оценка «жесткости» структуры как решающего фактора, определяющего способность вещества люминесцировать, полностью подтверждается и в случае неорганических люминесцирующих кристаллических соединений типа природных минералов. У них (как и у кристаллофосфоров) небольшая часть катионов кристаллической решетки замещена на атомы (ионы) примеси. Энергетические переходы, обуславливающие свечение, происходят в центрах люминесценции, т. е. в тех квазимолекулах, которые возникают при взаимодействии примесей с окружающими их анионами. И в этом случае, как и в органических молекулах, избыточная колебательная энергия возбужденного состояния распределяется по внутренним степеням свободы — по осцилляторам кристалла. «Жесткость» структуры, закрепленность атомов в их равновесных состояниях, вытекает у минералов (как и у кристаллофосфоров) из самой природы этих соединений и находит отражение в их исключительно высоких температурах плавления. В соответствии с вышесказанным эти соединения должны обладать способностью люминесцировать; и действительно для минералов характерно, что большинство их люминесцирует.

В заключение этого раздела напомним, что отсутствие люминесценции у вещества при его облучении светом той или иной длины волны может обуславливаться не только тем, что вещество не способно люминесцировать, но и тем, что оно не поглощает возбуждающий свет, т. е. в системе возможных для него энергетических уровней нет таких, переходы между которыми соответствуют энергии квантов возбуждающего излучения. Например, свечение дигидроакридина, реактива на озон, при возбуждении излучением лампы накаливания почти не наблюдается. Однако это обуславливается не неспособностью дигидроакридина люминесцировать, а тем, что его поглощение лежит в более коротковолновой части спектра, чем излучение лампы накаливания. Только в тех случаях, когда вещество поглощает возбуждающий свет и тем не менее не флуоресцирует, отсутствие люминесценции означает, что энергия возбуждения размещается по колебательным степеням свободы.

В вопросе о зависимости спектров люминесценции от структуры молекул ясности тоже еще не достигнуто, хотя этой теме и посвящено большое число работ. Особый интерес представляют, на наш взгляд, работы Непорента с сотрудниками. В них рассматривается связь между спектрами люминесценции и степенью и характером взаимодействия колебательных и электронных состояний в молекуле. Непорент различает молекулы простые и сложные [8]. За меру сложности молекулы Непорент принимает вероятность внутреннего перераспределения колебательной энергии W . Если взаимодействие между электронно-колебательными уровнями мало; т. е. W мало, молекуле свойственны хорошо развитые полосатые спектры *); это простые молекулы, обладающие обычно высокой степенью симметрии, примером может служить бензол. При увеличении W (нередко связанном с уменьшением симметрии молекулы) полосы в спектре размываются, отдельные максимумы пропадают и спектр образует одну сплошную полосу. Такие молекулы Непорент относит к категории сложных. У «средне-сложных» молекул спектр поглощения — дискретный, а испускания — диффузный; причина этого кроется в том, что при возбуждении возрастает запас колебательной энергии молекулы, а это влечет за собой увеличение

*) В интересной статье Шпольского [12] подробно рассмотрен вопрос о квазилинейных спектрах люминесценции, наблюдаемых у некоторых органических веществ в растворах парафиновых нормальных углеводородов при низких температурах.

величины W и соответственно размытие спектра. В классе сложных молекул Непорент рассматривает два случая:

1) связь колебательных и электронных состояний относительно слаба; ширина полосы не зависит от частоты электронного перехода и правило Левшина о зеркальной симметрии спектров поглощения и флуоресценции соблюдается.

2) Связь электронных и колебательных уровней сильна; в этом случае ширина полосы пропорциональна квадрату средней частоты электронно-колебательного перехода. Зеркальная симметрия спектров соблюдается только, если вычерчивать спектры в шкале длин волн (λ не частот) (ср. стр. 27).

В работах Непорента экспериментально показано на примере производных фталимида, что их спектры люминесценции представляют собой сплошную полосу не только в конденсированном состоянии, но и в газообразном, при большем разрежении, когда исключены газокинетические соударения с другими молекулами. Следовательно, сплошные спектры могут быть присущими самим молекулам.

В люминесцентном анализе начинают использовать для аналитических целей наряду с флуоресценцией (свечением во время возбуждения) и фосфоресценцию (послесвечение) органических веществ [9]. В изучении этого свечения теперь уже достигнуты значительные успехи, в частности в результате работ Теренина [10]. По своей природе послесвечение органических веществ принципиально отлично от общеизвестного длительного свечения неорганических кристаллофосфоров. У последних послесвечение носит рекомбинационный характер: оно обуславливается воссоединением электрона с ионизованным центром свечения. Фосфоресценция органических молекул — процесс мономолекулярный и, как указывалось выше, эта фосфоресценция связана с существованием метастабильных уровней T (см. рис. 19), т. е. таких уровней возбуждения, с которых, в противоположность обычным, вероятность перехода очень мала. При возбуждении электроны попадают на метастабильный уровень не непосредственно: сначала происходит переход на обычный уровень возбуждения S' , а с него часть электронов в результате внутренней конверсии (т. е. безызлучательного перехода) попадает на метастабильный уровень T . Итак, флуоресценция обуславливается переходом электрона из возбужденного состояния в нормальное, а фосфоресценция — переходами на нормальный уровень с метастабильного уровня, более низкого, чем уровень возбуждения. Поэтому по сравнению со спектрами флуоресценции спектры фосфоресценции смещены в сторону длинных волн. Метастабильный уровень T отождествляется Терениным с триплетным; уровни нормальные S и возбужденные S' — синглетные.

Несмотря на недостаточность теоретических данных, все же во многих случаях представляется возможным на основании структуры молекулы предвидеть характер ее флуоресценции, а также судить о строении молекул на основании наблюдаемой флуоресценции (речь идет, разумеется, не о деталях структуры спектра, а только о его описании в самых грубых чертах, и не о деталях строения вещества, а лишь о выявлении типа соединения). Так, например, имея раствор, обнаруживающий флуоресценцию желтого или красного цвета, мы можем быть уверены, что в нем содержатся сложные молекулы с очень большим числом сопряженных двойных связей; наоборот, флуоресценция фиолетового цвета у высокомолекулярного органического соединения делает вероятным предположение о его принадлежности к соединениям алифатического ряда, точнее, к соедине-

ниям насыщенного характера. Флуоресценция зеленого цвета у раствора, якобы содержащего только производные бензола, несомненно, доказывает присутствие каких-то примесей, и т. д.

Разумеется, такого рода заключения общего характера являются недостаточными; работающий по люминесцентному анализу вынужден ориентироваться в том, какие из веществ флуоресцируют и каков спектр их флуоресценции, в первую очередь на основании литературных данных. Читатель найдет их в конце книги в приложениях.

В приложениях I и II мы суммируем указания авторов, ставивших своей задачей изучение флуоресценции различных химически чистых соединений. В таблицах, приводимых в этих приложениях, читатель не только найдет необходимые ему сведения о флуоресценции того или иного интересующего его вещества, но путем сопоставления химической структуры соединений и их флуоресцентных свойств он сможет ориентироваться в том, как и какие вещества флуоресцируют. В соответствии с назначением этой части приложений рассматриваемые соединения сгруппированы в них по химическим типам, и только в отдельных случаях, в целях удобства пользования таблицами, этот принцип классификации не выдерживается строго (приводятся подряд вещества по признаку их совместного присутствия в анализируемом объекте).

Приложение I охватывает соединения жирного ряда и некоторые циклические; для этой группы веществ характерно или полное отсутствие флуоресценции, или свечение очень малой интенсивности; спектры флуоресценции этих веществ почти не изучены (см. вводное замечание к приложению I), и авторы ограничиваются указанием цвета свечения.

В приложении II объединены вещества тех химических типов, для которых характерна более или менее интенсивная флуоресценция; эти данные дополнены указанием спектров типовых сцинтилляторов, а также ряда веществ, исследованных в поисках сцинтилляторов.

В конце каждой таблицы приложения II приведены соединения хотя и принадлежащие к тому же химическому типу, но в отношении которых доказано отсутствие флуоресценции. Эти данные представляют существенный интерес хотя бы уже потому, что они позволяют уловить те структурные особенности, которыми как бы парализуется флуоресценция. Так, на примере производных бензола ясно вырисовывается специфическое «тушащее» влияние карбонильной группы.

При применении методов люминесцентного анализа [и в особенности приема V (гл. V)] чрезвычайно важно иметь возможность подобрать подходящий флуоресцентный краситель, подходящее люминесцентное вещество. Острый недостаток в соответствующих сведениях приходится испытывать всякому, кто использует в своей работе методы люминесцентного анализа. Читатель найдет их в приложениях III, V и VI. Приводимые в них данные относятся преимущественно к техническим материалам.

Интересные данные по рассмотренному кругу вопросов имеются в книге А. Н. Теренина [11], а также в обзорных статьях Э. В. Шпольского [9], [12].

ЛИТЕРАТУРА к гл. IV

1. H. Ley, K. Engelhardt, Zs. phys. Ch. 74, 30 (1910); H. Ley, Handbuch der Physik XXI, 710 (1929).
2. J. Stark, Phys. Zs. 9, 490, 667 (1908).
3. J. Stark, W. Steubing, Phys. Zs. 9, 486 (1908); H. Kaufmann, Beziehung zwischen physikalischen Eigenschaften und chemischer Konstitution. Stuttgart, 1920.

4. М. В. Волькенштейн, Строение и физические свойства молекул, М.—Л., Изд. АН СССР, 1955; Л. Паулинг, Значение резонанса для природы химической связи и структуры молекулы. Успехи химии 7, вып. 9, 1312 (1938); C. W. Wheeland, The theory of resonance and its application to organic chemistry. New York, London, 1945.
 5. G. Kortum, Zs. f. Elektrochem. u. angew. phys. Ch. 47, № 1, 55 (1941). (Весь номер посвящен конференции на тему «Lichtabsorption und Konstitution».)
 6. K. Pflaumer, Ber. dtsch. chem. Ges., Festschrift, 586 (1942).
 7. П. П. Феофилов, ДАН СССР 45, № 9, 387 (1944).
 8. Б. С. Непорент, Ж. физ. хим. 30, 1048 (1958); ЖЭТФ 21, вып. 2, 172 (1951); «Проблемы физической оптики». Сборник статей, посвящ. памяти С. И. Вавилова, Гостехиздат, М.—Л., 1951, стр. 44.
 9. Э. В. Шпольский, УФН 68, вып. 1, 54 (1959).
 10. А. В. Карякин и А. Н. Теренин, Изв. АН СССР, сер. физич. 13, № 1, 9 (1949).
 11. А. Н. Теренин, Фотохимия красителей и родственных органических соединений, Изд. АН СССР, М.—Л., 1947.
 12. Э. В. Шпольский, УФН 71, вып. 2, 215 (1960).
-

ГЛАВА V

СИСТЕМАТИЗАЦИЯ МЕТОДОВ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА

Из примеров, приведенных в первой главе, видно, что наблюдения люминесценции могут быть использованы во многих областях науки и практики. В настоящее время люминесцентный анализ применяют в технике, в медицине, в геологии, в химии, в сельском хозяйстве и т. д. Ясно, что при таких условиях объекты исследования и характер разрешаемых вопросов исключительно многообразны, и в этом состоит особенность методов исследования, основанных на наблюдениях люминесценции. Эти методы объединяют под общим названием «люминесцентный анализ». Случаи его применения носят в значительной степени индивидуальный характер, тем не менее представляется возможным группировать анализы по признаку применяемых приемов, несмотря на различие не только объектов исследования, но и преследуемых целей.

Например, определение содержания витамина В в молоке и использование флуоресцентного метода в геолого-поисковой работе для обнаружения залежей нефти — оба эти анализа, несмотря на свое внешнее различие, должны быть отнесены к одному и тому же типу: в обоих случаях по флуоресценции вещества обнаруживают его присутствие и определяют содержание. Биолог же, который изучает скорость циркуляции крови в теле путем впрыскивания кролику в ухо флуоресцентного раствора и наблюдения промежутка времени, по истечении которого флуоресценция обнаруживается в крови другого уха, и геолог, устанавливающий, есть ли связь между природными водоемами путем «подкрашивания» флуоресцентом воды в одном из них, — оба исследователя тоже используют по существу один и тот же прием, но уже иной, резко отличный от упомянутого выше. Классификация многообразных применений люминесцентного анализа по признаку используемых приемов (независимо от того, какова цель и объект исследования) облегчит специалисту любой области выбрать задачи, для разрешения которых люминесцентный метод может оказаться более эффективным, чем другие методы, а при проведении анализа поможет правильно использовать соответствующий прием, правильно вести наблюдения.

При систематизации методов люминесцентного анализа целесообразно различать люминесцентный анализ химический и «сортовой» (иначе «групповой»), хотя резкую границу между ними провести невозможно. При химическом анализе обнаруживаются или определяются количественно индивидуальные химические компоненты, а в некоторых случаях исследуются их свойства. При «сортовом» («групповом») анализе по признаку люминесценции исследуемые предметы сортируют или подразделяют на группы. Например, сортируют семена, бумагу, отбирают неполноценные детали машин; в медицинской практике подразделяют коллективы

детей на больных микроспорием и здоровых; сюда же относим решение тех или иных специальных задач, например определение жизнеспособности семян, степени выветренности стен и т. д. Во всех этих случаях не интересуются тем, каким именно из ингредиентов смеси обуславливается люминесценция анализируемого объекта. Так, при идентификации морфологически сходных семян по признаку различия их флуоресценции вопрос о том, каким именно органическим веществом обуславливается несходство их свечения, остается вне сферы рассмотрения. Если бы при дальнейших успехах фитобиохимии такой вопрос мог бы быть поставлен, а тем более разрешен, то и в данном случае сортовой анализ перерос бы в химический.

Рассмотрим основные приемы, которыми пользуются как при проведении химического люминесцентного анализа, так и анализа сортового.

1. Прием I. Наблюдение собственной люминесценции

Методы анализа, основанные на наблюдении собственной люминесценции интересующих объектов, представляются по замыслу наиболее простыми. В двадцатых и тридцатых годах XX в. в период увлечения люминесцентным анализом пользовались преимущественно этим приемом. Поражало и пленяло разнообразие цвета свечения у предметов и веществ, кажущихся одинаковыми при дневном свете. В печати во множестве публиковались описания анализов, заманчивых своей простотой, однако при их повторении получались противоречивые результаты. В результате увлечению одним противопоставился скепсис других. В настоящее время отпали сомнения в возможности получать результаты надежные и повторяемые, но одновременно стало ясным, что истолкование наблюдаемой люминесценции и использование приема первого для решения тех или иных задач, и тем более химических вопросов, требует осмотрительности и тщательной проверки возможных источников ошибок.

а) *Химический анализ органических веществ.* Обнаружить и идентифицировать люминесцирующее вещество по свечению далеко не так просто, как это кажется на первый взгляд. Сложность задачи обуславливается прежде всего тем, что чаще всего спектры флуоресценции растворов органических веществ представляют собой размытые широкие полосы, и только сравнительно немногие соединения (например порфирин, хлорофилл) обладают спектрами, состоящими из отдельных характерных узких полос. В этих условиях, при отсутствии линий и типичной структуры спектра, нельзя, разумеется, рассчитывать идентифицировать органические вещества по цвету их флуоресценции, и даже изучение спектров свечения во многих случаях не может дать определенный ответ. Для иллюстрации этого положения на рис. 20 приведены кривые почернения для спектров флуоресценции трех печеночных препаратов; две кривые почти совпадают. Однако это еще никак не позволяет сделать вывод, что химический состав именно этих двух препаратов особенно близок.

Сопоставление спектров флуоресценции, приведенных в таблицах приложений I и II, позволит читателю ориентироваться в характере флуоресценции различных веществ и оценить, в какой мере серьезны указанные затруднения. Из анализа таблиц читатель сделает вывод, что бензол и его производные флуоресцируют в ультрафиолетовой части спектра; замещение водородных атомов карбоксильными и аминок группами смещает флуоресценцию в видимую часть спектра. Соединения с конденсированными ароматическими ядрами светятся видимым светом, и по мере усложнения молекул спектр смещается в сторону больших длин

волн — к красному концу: нафталин флуоресцирует в ближнем ультрафиолете, антрацен — синим светом, аминафталин — зеленым, и т. д.

Среди наиболее распространенных органических соединений, к сожалению, преобладает цвет флуоресценции фиолетовый и синий, реже встречаемся с зеленым цветом флуоресценции; красным светом светятся, как видно из таблиц, порфирины, хлорофилл и сравнительно немногие другие соединения.

Из сказанного вытекает, что возможность обнаруживать флуоресцирующий компонент смеси по ее свечению ограничена. Ясно, что эта задача

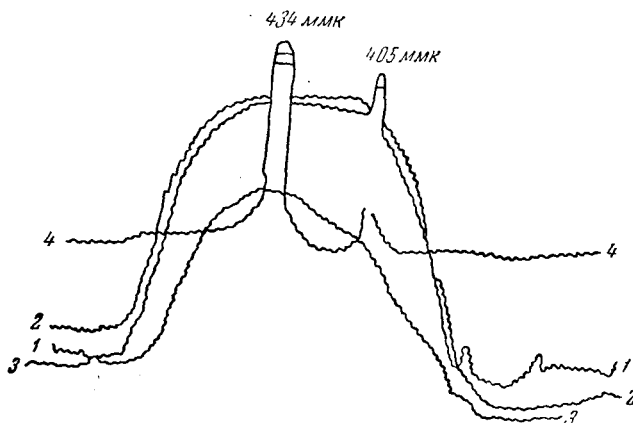


Рис. 20. Микрофотограммы спектров флуоресценции печеночных препаратов:

1 — гастриноль; 2 — американский печеночный препарат;
3 — французский препарат гепатроль; 4 — спектр ртутной лампы.

разрешима в такой упрощенной форме только в том случае, если способностью флуоресцировать обладает лишь один из компонентов смеси или если интересующее нас вещество флуоресцирует по цвету и по яркости резко отлично по сравнению с сопутствующими компонентами; например, по флуоресценции красного цвета легко обнаружить присутствие хлорофилла, а равным образом порфиринов как в растительных и животных объектах, так и в различного рода вытяжках.

В преобладающем числе случаев применение первого приема связано со значительными осложнениями в работе. В основном осложнения методики осуществляются в двух направлениях:

- 1) создаются условия наблюдения, при которых выявляется структура спектров, делающая возможным спектрально-люминесцентный анализ;
- 2) из многокомпонентной системы выделяются интересующие вещества или удаляются примеси.

Остановимся подробнее на обоих направлениях работы.

Для выявления тонкой структуры спектры исследуют при низких температурах (например, при температуре жидкого азота -196°C); при этом подбирают растворители, в которых наиболее отчетливо проявляется структура спектров [1]. Такая методика была подробно разработана Ильиной [2] для обнаружения в смолах и пищевых продуктах канцерогенного углеводорода — бензпирена. За последние годы эта методика была усовершенствована Дикунном [3]. По его данным в замороженных растворах в *n*-гексане и *n*-октане можно безошибочно идентифицировать 3,4-бенз-

пирен даже в смеси с другими сходными углеводородами, настолько отчетливо выявляются характерные линии в его спектре. Этот метод применим, однако, только в отношении ограниченного класса соединений (например, полициклических углеводородов), у многих же сложных органических веществ сплошные спектры люминесценции обуславливаются их структурой, их внутримолекулярными взаимодействиями и ни при каких условиях их сплошной спектр не разрешается на отдельные полосы и линии, не приобретает структуры [4]. К этим веществам люминесцентно-спектральный метод анализа неприменим.

Ильиной установлена возможность использовать в спектрально-аналитических целях не только флуоресценцию, но и длительное свечение — фосфоресценцию, обнаруженную ею у полициклических ароматических соединений в замороженном состоянии и длительно свещущую в некоторых случаях свыше 1 сек [2]. К аналогичному выводу приходят авторы работы 1957 г. [5].

На примере двух изомерных соединений Ильина показала, что спектры их фосфоресценции отчетливо различаются, хотя спектры флуоресценции почти одинаковы. Фосфоресценцию представляется возможным использовать для аналитических целей и в тех случаях, когда на фоне люминесценции смеси не удается выявить интересующий компонент по его флуоресценции, но это оказывается осуществимым при наблюдении послесвечения компонента, выявляющегося на темном фоне нефосфоресцирующей анализируемой смеси.

В некоторых случаях целесообразно усложнять первый прием применением для возбуждения люминесценции узких спектральных участков разной длины волны (см. гл. VI и XV).

Наконец, отметим, что применение светофильтров, позволяющих вырезать из суммарного люминесцентного излучения только интересующий спектральный участок, делает иногда возможным определять нужный компонент, несмотря на присутствие флуоресцирующих примесей.

Рассмотрим теперь усложнение методик, связанное с разделением многокомпонентных систем.

Во многих случаях разделение осуществляется обычными химическими приемами извлечения нужных компонентов или удаления примесей методами экстрагирования, адсорбирования, соосаждения и т. д.

Для ориентировочного суждения о люминесцирующих компонентах смеси нередко применяют капиллярный анализ: на подвешенной полоске бумаги, погруженной концом в исследуемый раствор, вещества выявляются по образующимся на полосе люминесцирующим зонам.

Еще более эффективно применение хроматографии М. С. Цвета [6], в частности люминесцентной хроматографии, с последующим изучением выделяемых зон экспресс-реакциями.

Конкретизируем сказанное примером [7]. Если несколько миллилитров вытяжки из растений, содержащих антрагликозиды, просасывать через трубку, набитую адсорбентом — окисью магния, то образуется ряд зон; например, для вытяжки из ревеня легко получить до 9 зон, различающихся по флуоресценции и по цвету. Если разрезать трубку и осторожно выделить отдельные зоны, то легко в достаточной мере точно охарактеризовать шесть из них *) по совокупности следующих признаков: 1) по адсорбционной способности (т. е. по месту в хроматограмме); 2) по цвету и флуоресценции адсорбатав; 3) по их изменению под влиянием кислот и щелочей; 4) по характеру элюирования (извлечения) адсорбированного вещества.

*) Три зоны были настолько малы, что отделить их не удалось.

эфиром; по цвету и флуоресценции получающихся растворов, если элюция имела место; 5) по изменению флуоресценции эфирного раствора под влиянием кислот и щелочей и 6) по распределению флуоресцирующего вещества между водной и эфирной фазой и по флуоресценции последней. Как видно из приведенного перечня поверочных операций, все они являются экспресс-реакциями.

Отметим, что подобного рода дополнительными реакциями вообще целесообразно проверять выводы из наблюдений люминесценции вещества. Для хроматографирования бесцветных и нелюминесцирующих веществ предложено применять адсорбенты—неорганические люминофоры ($Zn_2SiO_4 \cdot Mn$ и $ZnS \cdot Mn$). Если вещество, образующее зону, поглощает ультрафиолетовое излучение, которым возбуждается люминофор*), то зона обнаруживается как темная полоса на светящемся фоне. (О получении люминесцентных адсорбентов покраской см. стр. 74.)

В методическом отношении заслуживает внимания метод хроматографирования (на колонке силикагеля), позволивший его авторам [8] с точностью до 1% определять в горючем содержании трех типов углеводов: ароматических, олефиновых и насыщенных. Границы между зонами обнаруживались путем добавления к анализируемому образцу смеси красителей; малорастворимый нефлуоресцирующий краситель окрашивает в красный цвет границу спирт — углеводороды; краситель, флуоресцирующий синим светом, отчетливо выявляет границу между ароматической и олефинами, а флуоресцирующий желтым светом — между олефинами и насыщенными углеводородами.

В пятидесятых годах предложен и нашел широкое применение исключительно чувствительный и эффективный метод хроматографирования на бумаге. Осуществляется оно следующим образом: на бумажную полосу на некотором расстоянии от ее нижнего (или верхнего) края наносят каплю раствора, содержащего те или иные вещества; подсушив каплю, погружают полосу ее нижним (или загнутым верхним) концом в растворитель; всю систему помещают в плотно закрытый сосуд для избежания испарения растворителя. При таких условиях начинается восходящий (или нисходящий) ток жидкости по бумаге, и если первоначально нанесенные на нее вещества растворимы в примененном растворителе, то они вместе с ним тоже продвигаются по бумаге, но с различной скоростью.

Обычно при бумажной хроматографии применяют растворители, состоящие из нескольких жидкостей с неодинаковой способностью продвигаться по бумаге. Компоненты хроматографируемой смеси по-разному распределяются между жидкостями растворителя и водноцеллюлозным комплексом; отсюда название «разделительной» хроматографии [9]. На хроматограмме получаются зоны («пятна»), соответствующие отдельным компонентам смеси.

Использование флуоресценции для выявления «пятен» делает метод бумажной хроматографии (как хроматографии вообще) особенно удобным и чувствительным. Фронт продвижения растворенного вещества всегда отстает от фронта растворителя, а отношение расстояний от места нанесения до фронтов продвижения растворенного вещества, с одной стороны, и растворителя — с другой, остается практически постоянным для каждого отдельного компонента, разумеется, при условии осуществления хро-

*) $Zn_2SiO_4 \cdot Mn$ возбуждается коротковолновым ультрафиолетовым излучением ($\lambda = 254$ м.м.к), $ZnS \cdot Mn$ — длинноволновым ($\lambda = 366$ м.м.к).

матографирования на одной и той же бумаге с использованием одних и тех же растворителей, постоянной температуры и т. д. Отношение это обозначают R_f . Как ясно из сказанного, R_f компонента тем меньше, чем больше он отстает от растворителя в своем продвижении по бумаге; для компонента, нерастворимого в продвигающейся жидкости, R_f равно, очевидно, нулю.

Если первоначально нанесенные капли содержат смесь нескольких веществ, то на хроматограмме они располагаются в соответствии со значениями их R_f , и это дает возможность идентифицировать по R_f компоненты, образовавшие обнаруженные на хроматограмме «пятна».

Если вещество в «пятне» не окрашено и не флуоресцирует, то для его выявления хроматограмму обрабатывают (например, обрызгивают) соответствующим реактивом, и «пятна» начинают люминесцировать, или при другом варианте реактив вызывает свечение бумаги, и «пятна» выделяются на ней, как темные места на ярко флуоресцирующем фоне [10]. Для выявления терпенов с реакционноспособными двойными связями применен следующий метод: готовую хроматограмму опрыскивали 0,05%-ным раствором флуоресцеина и затем держали в парах брома. «Пятна» терпенов связывают бром быстрее флуоресцеина; светятся они желтым светом и отчетливо выявляются на фоне розовой флуоресценции эозина, образовавшегося из флуоресцеина [11].

Для количественных определений иногда вырезают «пятна», элюируют (извлекают) вещества и определяют их содержание в растворе. Заманчивее другой путь: весь световой поток флуоресцирующего «пятна» улавливают на фотоэлемент [12, 13] и тем самым одновременно учитывают и размер «пятна», и интенсивность его свечения, т. е. оба параметра «пятна», на которых сказывается количество люминесцирующего вещества в нем.

Мы попытались возможно полнее очертить сферу и методы целесообразного использования рассматриваемого приема люминесцентного анализа в целях идентификации или обнаружения веществ по флуоресценции, так как в недавнем прошлом отсутствие ясности в этом вопросе нередко приводило к тому, что при помощи люминесцентного анализа пытались разрешать задачи, заведомо этим методом неразрешимые. Так, например, в немецкой работе, опубликованной в 1940 г. [14], в статье, озаглавленной «Люминесценция пахучих веществ», автор описывает свечение 252 (!) просмотренных им органических соединений (спиртов, альдегидов, кетонов, простых и сложных эфиров) и в конечном счете приходит к выводу, что флуоресценция — свойство настолько атипичное, что не годится для целей распознавания веществ. Разумеется, автор прав: нельзя решить, посмотрев люминесценцию жидкости, какое вещество она собой представляет. Однако неправильно поставлена сама задача; невозможность ее решения этим путем с очевидностью вытекает из самой природы явления и не требует подтверждения экспериментом.

Рассматриваемая работа грешит, по-видимому, еще и такой методической ошибкой: чувствительность люминесцентного метода анализа является той особенностью, которая определяет сферу целесообразного его применения; между тем при наблюдении флуоресценции жидкого вещества чувствительность метода не только не используется, но даже играет роль отрицательного фактора, так как чрезвычайно сильно должно сказываться влияние флуоресцирующих загрязнений. В самом деле, если жидкое вещество загрязнено флуоресцирующей примесью в количестве хотя бы 0,01%, то оно представляет собой раствор этой примеси концентрации 10^{-4} г/мл³, т. е. концентрации, оптимальной с точки зрения наблю-

дения флуоресценции примеси, тогда как флуоресценция самого жидкого вещества потушена и искажена его высокой концентрацией.

Обнаружение и идентификация веществ не являются единственной задачей, разрешимой методом наблюдения собственной флуоресценции вещества. Использование этого же приема позволяет выявлять некоторые общие данные относительно химической структуры интересующего вещества. Например, можно с уверенностью сказать, что вещество не является углеводородом, если его флуоресценция изменяется в зависимости от рН среды, или что оно не является простейшим производным бензола, если обладает флуоресценцией красного цвета, и т. д.

Каутский и Хон по флуоресценции гидразида 3-аминофталевой кислоты в адсорбированном состоянии выявляют наличие определенных таутомерных форм гидразида в адсорбатах, получаемых при различных условиях [15].

Кун и Кальтшмидт [16] воспользовались флуоресценцией витамина B_2 для решения вопроса, находится ли витамин в молоке в свободном состоянии или в связанном с фосфорной кислотой; они наблюдали поведение обезжиренного молока в электрическом поле и обнаружили, что, тогда как молочно-белая суспензия передвигалась к аноду, вещество, флуоресцирующее желто-зеленым светом (витамин B_2), оставалось неподвижным; следовательно, в молоке витамин с фосфорной кислотой не связан.

Наконец, наблюдения собственной флуоресценции вещества можно использовать для разрешения еще одной задачи химического характера — этим путем удобно следить за изменениями, претерпеваемыми веществом во времени.

Бьери и Гузон [17] сравнением спектров флуоресценции гепофлавиона до и после облучения ультрафиолетовым светом устанавливают изменения, произошедшие в нем в результате фотохимической реакции.

По спектрам флуоресценции фолликулина хорошо улавливается его постепенное изменение в воднощелочном растворе (см. стр. 200), и т. д.

Возникновение флуоресценции фиолетового цвета в сернокислых растворах тебаина при их стоянии позволяет улавливать момент наступления описанного в литературе гидролиза тебаина с образованием кодеина и т. д. [18].

Следует еще раз подчеркнуть, что не только те лаборатории, которые ведут исследования в областях, отвечающих по своему характеру специфике люминесцентного анализа, но и иные химические лаборатории могут с успехом использовать наблюдения в ультрафиолетовом свете, например, для обнаружения загрязняющих примесей, для подыскания растворителей и экстрагентов, для контроля изменений, претерпеваемых веществом, для ориентировочного суждения о концентрации компонента (флуоресцирующего), для подыскания адсорбента, для ориентировочного суждения о природе вещества и т. д.

б) *Химический анализ неорганических веществ.* Из числа неорганических соединений в растворенном состоянии люминесцируют лишь соли редкоземельных элементов, ураниловые соли и некоторые комплексные соли тяжелых металлов. Только в отношении этой небольшой группы элементов может стоять вопрос об обнаружении их ионов по люминесценции растворов.

У неорганических веществ в твердом состоянии способность люминесцировать — широко распространенное свойство. Однако во многих случаях люминесценция обуславливается примесями и в виде общего пра-

вила не является достаточно характерной для идентификации вещества. Тем не менее наблюдения люминесценции можно с успехом использовать и здесь [19] для выяснения ряда вопросов, например для исследования кристаллических соединений с завершенной дефектной структурой, т. е. таких, у которых часть узлов решетки занята иными катионами, чем остальные. У них по люминесценции удобно выявлять модификации кристаллических веществ и изучать их превращения [20], а также исследовать твердофазные реакции [21]. Наблюдения люминесценции в сочетании с другими методами анализа позволяют устанавливать зависимость как свойств рассматриваемых кристаллических систем, так и возможностей их образования от размеров входящих в них ионов [22], от разрыхленности решеток и других параметров. Люминесцентный анализ применен в указанных целях пока лишь в единичных исследованиях; представляется, однако, вероятным, что развитие работ этого направления углубит наши знания о природе, свойствах и процессах образования неорганических кристаллохимических систем.

в) *Сортовой (групповой) анализ.* В сортовом анализе наблюдение собственной люминесценции используется чрезвычайно широко во всех областях практики. Подчеркнем еще раз, что просмотр люминесценции веществ, несмотря на свою полезность, не может рассматриваться как метод химического анализа. Поясним сказанное описанием конкретного случая из практики. В лаборатории было заготовлено для хроматографического анализа большое число трубок, набитых окисью магния и окисью алюминия. При переезде эти трубки были перепутаны, и, казалось, всю работу по подготовке анализов надлежало начинать сначала. Однако по флуоресценции голубого цвета окиси магния и фиолетового — окиси алюминия оказалось возможным рассортировать трубки в какие-нибудь десять минут. Так труд многих дней был сведен к десятиминутной операции. Отсюда, однако, не следует, что можно вообще определять окиси магния и алюминия по флуоресценции — ведь в зависимости от содержащихся примесей нередко образцы одного и того же вещества светятся по-разному. В известной степени это справедливо и в отношении органических веществ.

Следует помнить, что возможности сортового анализа можно расширить. Для этого в качестве источника освещения применяют не только ближнюю область ультрафиолетовых лучей, но и среднюю и коротковолновую, а также лучи рентгеновские и катодные (см. гл. XI); кроме того, можно использовать светофильтры в целях подчеркивания разницы цвета свечения, наблюдать не только флуоресценцию, но и послесвечение, сравнивать периоды затухания и т. д.

2. Прием II. Качественные флуоресцентные реакции

Люминесцентные свойства вещества обуславливаются, как мы видели, электронной конфигурацией его молекул. Уже незначительные ее структурные изменения нередко сказываются на флуоресценции вещества — последняя исчезает, появляется или изменяется в цвете.

При аналитических реакциях мы обнаруживаем и идентифицируем вещества по выпадению осадка, по изменению цвета, по выделению газов, в отдельных случаях по запаху, по изменению точек плавления и кипения и т. д.

К числу признаков вещества, используемых в целях анализа, относятся и люминесцентные его свойства.

Соответствующие аналитические реакции называют ф л ю о р е с ц е н т н ы м и. В одних случаях путем вспомогательной реакции заставляют искомое вещество флуоресцировать или, если оно уже обладало этим свойством, изменяют характер его свечения. В других случаях наблюдают изменения флуоресценции реактива под влиянием искомого вещества. Таким образом, сфера применения люминесцентного анализа отнюдь не ограничивается люминесцирующими соединениями; флуоресцентными реакциями обнаруживают присутствие следов озона, кислорода, брома, ацетилен и др.

При проведении аналитических реакций необходимо строго учитывать среду и условия, в которых надлежит их проводить; это, разумеется, в полной мере относится и к реакциям люминесцентным. Основная задача химика-аналитика — заставить химическое превращение идти только в нужном ему направлении и притом так, чтобы были исключены все побочные реакции с компонентами, сопутствующими искомому веществу. Правильное решение этой задачи является, очевидно, столь же существенным и при люминесцентных реакциях. Так же, как и для обычных химических реакций, должны быть детально выяснены все условия: рН среды, нужные концентрации реактива, допустимые и недопустимые примеси и т. д. Словом, должен быть точно разработан ход анализа. Как и в случае типично химических реакций, некоторые аналитические флуоресцентные реакции требуют соблюдения жестких условий, другие допускают сравнительно широкую их вариацию.

Преимущество люминесцентных химических реакций перед обычными — их исключительная чувствительность; люминесценцию можно наблюдать при очень малых концентрациях флуоресцирующего вещества, и это, как уже выше указывалось, специфически характерно для явления флуоресценции, а следовательно, и для приемов, основанных на его использовании. Кроме того, включение флуоресцентных реакций в число аналитических увеличивает ассортимент последних; в некоторых случаях, когда реакция на химический индивидуум отсутствует, заполнение пробела является существенным.

Подобно цветным, люминесцентные реакции во многих случаях не требуют разделения смеси и выделения искомого вещества; они в полной мере отвечают требованиям экспресс-методов. Следует, однако, иметь в виду, что изучение флуоресцентной реакции, разработка рецептуры и условий проведения требуют такой же тщательности, как и всякая аналитическая химическая реакция.

Таким образом, специфика химического анализа, в частности микроанализа, является для флуоресцентных реакций более характерной, чем специфика люминесцентного анализа, и понятно, что большинство описанных флуоресцентных реакций было применено как микрореакции. Описание многих из них мы находим в книге Гайтингера «Флуоресцентный анализ в микрохимии» [23].

Следует подчеркнуть, что возможности использования флуоресцентных реакций можно расширить путем целесообразного выбора длин волн возбуждающего света. Для иллюстрации этого остановимся на сравнении спектров поглощения и люминесценции дигидроакридина и акридина. Эти спектры были исследованы Е. Д. Шолоховой и Л. А. Кузнецовой *); сами по себе они представляют интерес в связи с реакцией на озон: дигидроакридин окисляется озоном в акридин и по интенсивности возникающей

*) Приношу благодарность указанным авторам за предоставленные ими данные.

люминесценции определяют количество прореагировавшего озона (ср. гл. XII, стр. 178). Спектры поглощения были получены на спектрофотометре СФ-4. Спектры люминесценции снимались на установке с монохроматором УМ-2 и фотоэлектрическим приемником. Источником света служила ртутная лампа СВДШ-250. Спектр каждого из растворов промерялся при

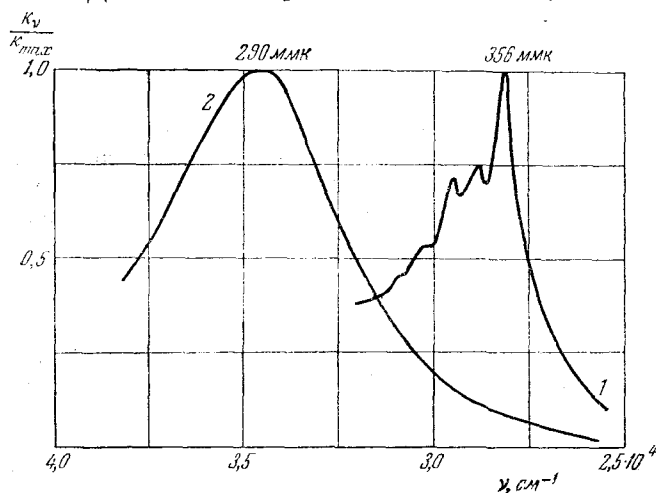


Рис. 21. Спектры поглощения акридина (1) и дигидроакридина (2).

возбуждении одной ртутной линией, выделяемой с помощью светофильтра. Для возбуждения свечения акридина бралась линия $366 \text{ м}\mu$, для дигидроакридина — линия $313 \text{ м}\mu$.

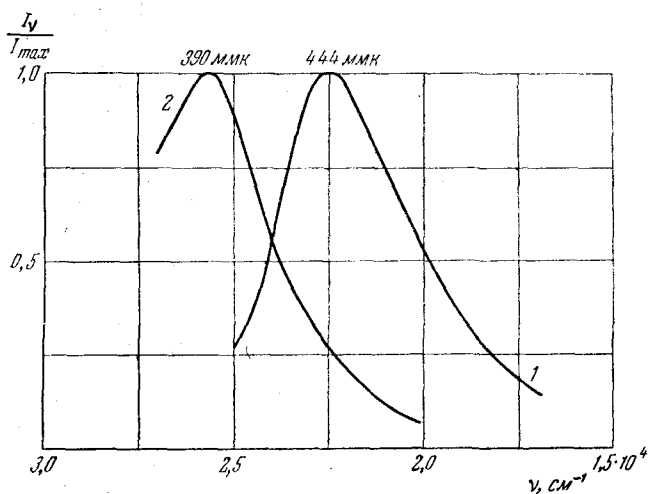


Рис. 22. Спектры люминесценции акридина (1) и дигидроакридина (2).

Полученные спектры поглощения и свечения спиртовых растворов с концентрацией 10^{-4} г/см^3 приведены на рис. 21 и 22.

Как видно из рис. 21, максимумы поглощения акридина и дигидроакридина, приходящиеся соответственно на $\nu = 2,81 \cdot 10^4 \text{ см}^{-1}$ ($356 \text{ м}\mu$)

и $3,45 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$ (290 мμ), находятся на достаточно большом расстоянии; таким образом, хотя реактив и продукт его окисления оба люминесцируют, тем не менее разделение свечения этих веществ легко осуществимо при условии правильного выбора длины волны возбуждающего света. Для того чтобы наблюдать свечение по возможности только одного акридина, лучше всего возбуждать его светом с частотой около $2,81 \cdot 10^{-4} \text{ см}^{-1}$ (356 мμ), соответствующей максимуму поглощения акридина. Поглощение дигидроакридина при этой длине волны сравнительно невелико (см. рис. 21).

Полосы свечения исследуемых растворов (рис. 22) перекрываются сильнее, чем полосы поглощения. Однако и здесь с помощью соответствующего светофильтра можно выделить свечение акридина.

Из этого примера отчетливо видно, как при выборе реактива для люминесцентной реакции результаты наблюдений могут изменяться в зависимости от длины волны возбуждающего излучения: ведь определение озона с помощью дигидроакридина оказалось бы неосуществимым, если флуоресценция окисляемого реактива возбуждалась бы более короткой длиной волны.

Прием второй применяется преимущественно в аналитической химии неорганических соединений. Чтобы легче ориентироваться во флуоресцентных реакциях, можно разбить их на следующие типы:

1. Обнаружение катионов по флуоресценции соединений, большей частью типа внутрикмоплексных, которые катионы образуют с органическими реагентами, например с оксихинолином.

2. Обнаружение химически активных веществ по вызываемому ими изменению люминесценции органических реактивов. Например, озон действует окисляюще на дигидроакридин и определяется по флуоресценции образующегося акридина. Бром обнаруживается по изменению цвета люминесценции флуоресцеина, который переводится бромом в эозин, и т. д.

3. К третьему типу реакций относим те, в которых вещества обнаруживаются по их тушащему действию или, наоборот, по обусловливаемому ими разгоранию реагента. Так, для обнаружения следов сульфидов и сульфитов вытесняют кислотами сероводород или сернистый газ из их солей, улавливают их водой и полученный раствор кипячением с перекисью водорода окисляют в серную кислоту. Образование последней обнаруживают по разгоранию флуоресценции прибавленного к раствору хинина. Обнаруживаемый минимум — 0,25 мг сернистого газа. При оценке специфичности данной реакции следует помнить, что разгорание флуоресценции хинина определяется в первую очередь концентрацией ионов водорода, а не анионов SO_4'' (однако, как уже указывалось, анионы соляной кислоты тушат флуоресценцию хинина).

Флуоресцентные реакции на органические соединения принципиально не отличаются от обычных аналитических реакций. При их осуществлении необходимо помнить о возможных источниках ошибок, которые были указаны применительно к первому приему.

3. Прием III. Количественный люминесцентный анализ

Мы подразумеваем под количественным люминесцентным анализом совокупность методов определения содержания интересующего вещества, основанных на наблюдении люминесценции.

Рационально рассматривать отдельно две группы количественных методов, которые принципиально различаются по роли, какую в них играют наблюдения флуоресценции. К первой группе мы отнесем те методы,

в которых хотя количественное определение и осуществляется путем наблюдения свечения, однако по существу это разновидности обычного количественного химического анализа; флуоресценцию используют здесь как своеобразный индикатор.

Во второй группе мы относим те методы количественного анализа, которые основаны на измерении интенсивности флуоресценции интересующего вещества.

Как на примере первой группы, остановимся на флуоресцентном методе титрования хинина. Яркая флуоресценция водного раствора хинина исчезает при прибавлении к нему брома (бромной воды): хинин переходит в нефлуоресцирующее производное. Обычным титрованием, но только в ультрафиолетовом свете, определяют то минимальное количество брома, которое необходимо, чтобы «потушить» флуоресценцию раствора, точнее, перевести весь хинин в нефлуоресцирующее производное. Отсюда стехиометрическим расчетом определяют содержание хинина в исходном растворе.

Аналогично можно оттитровывать сульфат хинина раствором едкого натра по изменению цвета флуоресценции (переход средней серноокислой соли в основную и далее в основание).

Наконец, в ряде случаев применяют флуоресцентные адсорбционные индикаторы и о конце реакции судят по изменению их свечения (см. гл. VIII, стр. 128).

Ясно, что эти определения представляют частные случаи обычного химического титрования; их отличие только в том, что конец реакции узнают не по цвету раствора, а по изменению его флуоресценции, наблюдаемой в ультрафиолетовом свете. Основное преимущество титрования с использованием наблюдений люминесценции заключается в исключительной его чувствительности и вытекающей отсюда возможности применять титрование при чрезвычайно малых концентрациях. Этим определяются и сфера целесообразного применения люминесцентного титрования и методика работы — пользование чрезвычайно разбавленными растворами (например, 0,01 н. едким натром) и микроаппаратурой (микробюретками).

К люминесцентному титрованию примыкают предложенные разными авторами методы, основанные на наблюдениях тушения флуоресценции растворов при прибавлении к ним определенных количеств реагентов. Следует помнить, что подобного рода количественные методы не могут быть надежными, если не выяснена природа наблюдаемого процесса тушения или если процесс не укладывается в стехиометрическое уравнение соответствующей химической реакции.

Как видно из сказанного, характер анализов этой группы, достигаемая точность определяются спецификой количественного химического анализа; роль же флуоресцентных наблюдений лишь второстепенная.

Совершенно иной удельный вес наблюдений флуоресценции в анализах второй группы, т. е. в количественных методах, основанных на оценке интенсивности свечения. Как уже указывалось (гл. II), у растворов малой концентрации яркость пропорциональна концентрации и по интенсивности люминесценции вещества в растворе определяют его содержание в нем. Иногда можно довольствоваться визуальным сравнением интенсивностей флуоресценции анализируемого раствора и набора стандартных растворов разной концентрации того же вещества. При соблюдении одинаковых условий возбуждения и наблюдения люминесценции сравниваемых растворов глаз безошибочно размещает в порядке падающей интенсивности свечения растворы, различающиеся по концентрации на 5%, а при очень малых концентрациях — на 10%. Применение фото-

метров и других приборов для измерения интенсивности свечения избавляет от необходимости иметь набор стандартных растворов. В настоящее время пользуются предпочтительно фотоэлектрическими фотометрами, позволяющими объективно, точно и быстро измерять интенсивности свечения. При определении концентрации растворов легко допустить ошибки вследствие недоучета таких факторов, как концентрационное тушение, тушение примесями, реабсорбция, неправильно подобранное рН и т. д.

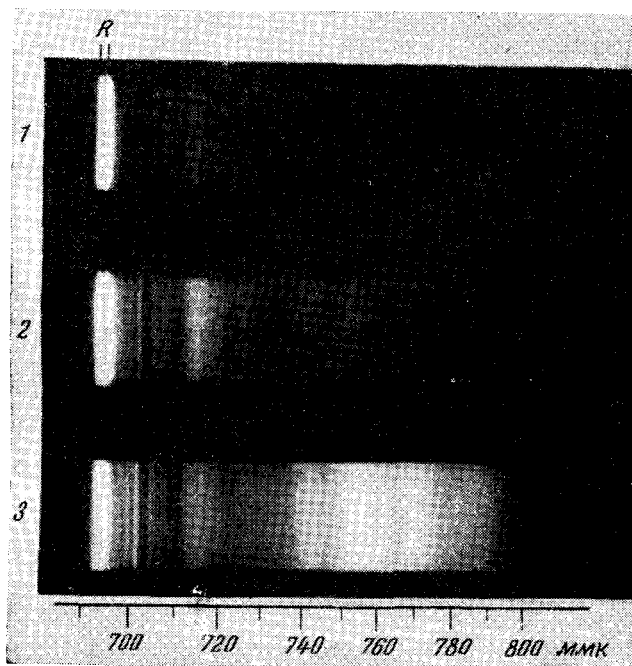


Рис. 23. Спектры люминесценции синтетического рубина с различным содержанием хрома:
1 — 0,05% Cr_2O_3 ; 2 — 0,86% Cr_2O_3 ; 3 — 1,4% Cr_2O_3 .

Во избежание повторений отсылаем читателя к гл. II и III, где эти вопросы уже рассмотрены.

В качестве упрощенного метода определения концентрации применяют и такой прием: определяют минимальную концентрацию исследуемого вещества в растворе, при которой глаз еще улавливает свечение, и затем путем разбавления исследуемого раствора устанавливают, во сколько раз его концентрация больше той минимальной, при которой свечение исчезает (см. гл. VI, стр. 90).

Принципиально новый метод количественного люминесцентного анализа представляет разработанный Феофиловым метод, основанный на использовании наблюдаемой у некоторых кристаллических веществ зависимости спектра люминесценции от концентрации люминесцирующего компонента. В ряде случаев, особенно у веществ со спектром люминесценции, состоящим из нескольких полос или линий, эта зависимость выражена достаточно резко. В качестве примера на рис. 23 приведена зависимость спектра люминесценции синтетического рубина ($\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{Cr}$) от концентрации хрома, обуславливающего окраску и интенсивную красную люминес-

ценцию кристаллов. Как можно видеть из спектрограмм, по мере роста содержания хрома в образце возрастает относительная интенсивность длинноволновой, инфракрасной части спектра. Нередко в тех случаях, когда спектр люминесценции состоит из двух или более полос, отношение интенсивностей этих полос существенно изменяется с ростом концентрации люминесцирующего компонента в кристалле. При наличии такой зависимости количественные определения, в данном случае содержания хрома в рубине, могут быть сведены к измерению относительных интенсивностей свечения в различных участках спектра. Это измерение целесообразно производить объективным фотоэлектрическим методом, устанавливая перед окном фотоэлемента (или фотоэлектронного умножителя) поочередно светофильтры, выделяющие необходимые участки спектра. Отношение показаний измерительного прибора при измерении через различные светофильтры может служить количественной мерой спектрального состава излучения, а следовательно, и искомой концентрации. Разумеется, при проведении анализа должны в точности воспроизводиться те же самые условия, при которых был получен градуировочный график (те же светофильтры, приемник, источник возбуждения и т. п.).

Описанная методика была с успехом применена П. П. Теофиловым и Л. А. Кузнецовой при разработке люминесцентного метода определения содержания хрома в синтетических рубинах (см. гл. XIV).

Во всех количественных флуоресцентных анализах второй группы решающую роль играет специфика самого явления флуоресценции. Надежность количественных методов анализа, основанных на оценке интенсивности свечения, существенно зависит от соблюдения определенных условий при измерениях интенсивности. Поэтому важно понимать основные факторы, влияющие на результаты измерений. Вопросы эти детально разобраны в следующей, VI главе. В главе VII читатель найдет описание приборов, которыми пользуются для измерения интенсивностей свечения.

4. Прием V. Наблюдение вторичной, т. е. извне привнесенной, флуоресценции*)

а) *Подкрашивание флуоресцентными веществами жидкой среды.* Практические задачи, разрешаемые этим методом, чрезвычайно многообразны. Жидкость подкрашивается прибавлением ничтожнейших количеств флуоресцентного вещества; этим создается возможность по свечению следить за распространением жидкости в твердой среде. Данкворт в своей книге пишет, что этим путем обнаруживали трещины в стенах строений; для этого смачивали (пульверизацией) стены флуоресцирующей жидкостью и, наблюдая места глубокого ее проникновения, обнаруживали скрытые трещины [24]. Этим же методом исследуют степень разрыхленности горных пород. В качестве проникающей жидкости применяют воду или масло; если последнее флуоресцирует недостаточно ярко, его подкрашивают антраценом [25]. Следует отметить, что химически чистый антрацен обладает лишь слабой флуоресценцией фиолетового цвета; антрацен технический, содержащий примеси, в частности нафтацен, ярко светится

*) Прием IV—применение флуоресцентных и хемилюминесцентных веществ в качестве индикаторов. Принципиальной разницы между обычными и флуоресцентными индикаторами нет, и поэтому нет необходимости рассматривать специфические особенности этого приема. Во избежание повторов мы в данной главе на нем останавливаться не будем и отсылаем читателя к гл. VIII и IX, посвященным флуоресцентным и хемилюминесцентным индикаторам.

зеленым светом [26, 27]. Для подкрашивания воды удобно применять флуоресцеин в щелочном растворе. Чтобы достичь растворения люминесцентных красителей в масле, предложено проводить нагревание с добавлением стеарата алюминия [28].

Любопытный вариант испытаний по исследованию проникновения жидкости описан Дерибере [29]: исследуемый образец *C* в виде плоской пластинки помещают на поверхность воды в сосуде *B* (рис. 24), сообщаемом с длинной вертикальной трубкой *A*. Специально устроенной пробкой образец плотно прижимают к поверхности воды, на его верхнюю поверхность наносят краску, обладающую способностью флуоресцировать только в растворе (только в смоченном состоянии). Замечают (в ультрафиолетовом свете) момент появления флуоресценции на поверхности образца, т. е. момент, когда жидкость, пройдя сквозь образец, достигает его поверхности, и таким образом определяют время, какое на это потребовалось. Флуоресцентную краску наносят в смеси с веществом, энергично поглощающим воду, например, родамин смешивают с крахмалом или с порошком сахара. Для ускорения проникновения воды образец испытывают под давлением столба воды или ртути, наливаемых в боковую трубку *A*.

Для этого последнего случая, как и для всех остальных, характерно, что концентрация вещества в растворе, люминесценция которого наблюдается, очень мала. Именно благодаря этому прием V используют даже в медицине (гл. XVII, стр. 292).

Малый расход требуемого флуоресцентного вещества обеспечивает возможность применения V приема в геологических изысканиях для наблюдения за циркулирующей подземных вод и в целях установления связи между водоемами [24, 27]. Согласно литературным данным [30], окраска флуоресцеином сохраняется в подземных водах в течение 30—54 месяцев; присутствие флуоресцеина устанавливается с полной достоверностью даже при концентрациях 10^{-9} — 10^{-11} г/мл. В опытах, поставленных в лабораторных условиях и до некоторой степени имитирующих природные условия, французские исследователи показали, что ни адсорбция флуоресцентного вещества из раствора, ни наличие железистых пород не вносят серьезных ошибок.

Эти опыты интересны с точки зрения оценки приема в целом: хотя адсорбция — процесс обратимый и представляется невероятным, чтобы адсорбция сильно сказывалась на результатах наблюдений при столь низких концентрациях флуоресцентного вещества, тем не менее такая возможность а priori не являлась исключенной, и описанная экспериментальная проверка приема заслуживает внимания.

б) *Подкрашивание флуоресцентным веществом твердой среды.* Метод находит особенно широкое применение в микроскопической практике.

Нет принципиального различия между обычными и люминесцентными красителями микроскопических объектов — и в том и в другом случае применение красителей, увеличивая контраст, делает заметной разницу, которая иначе оставалась бы неуловимой. Вместе с тем ясно, что применение флуоресцентных красителей вооружает исследователя и практика, работающего в этом направлении, новым методом исследования, открывает новые перспективы (см. гл. XVIII, стр. 312). За последнее десятилетие

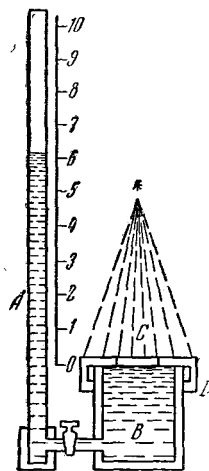


Рис. 24. Схема прибора для определения проницаемости среды.

флуоресцентные красители — флуорохромы — нашли чрезвычайно широкое применение как у нас, так и за границей. В приложении приведены выпускаемые у нас флуорохромы.

Флуорохромы (люмогены) используют отнюдь не только в люминесцентной микроскопии: их с успехом применяют и во многих других случаях, например для получения флуоресцентных адсорбентов при хроматографировании бесцветных и нелюминесцирующих соединений. Зоны вещества на хроматограмме обнаруживают по отсутствию люминесценции адсорбента в тех местах, где вследствие абсорбции веществом возбуждающего излучения адсорбент не люминесцирует. Брокман и Байер [31] рекомендуют морин для «покраски» адсорбента, но только если хроматографируют на окиси алюминия, на окиси магния или на карбонате кальция; если адсорбент — кремнезем, пользуются берберинном; применение натриевой соли 3-оксирирен-5,8,10-трисульфокислоты для «покраски» подкисленной соляной кислотой окиси алюминия (80 мг на 1 кг) позволяет выявлять вещества, спектр поглощения которых простирается в область коротких длин волн. В другой работе [32] описан метод получения твердых флуоресцентных колонок; их преимущество в отсутствии стеклянных стенок, препятствующих выявлению зон вещества, спектр поглощения которых лежит в той же области длин волн, где поглощает стекло (230—290 м.мк).

За последние годы выявилась возможность эффективно использовать покраску люминесцентными красителями песков для изучения миграции грунта. Соответствующая методика разработана Матвеевым [33]. Мы остановимся на ней подробнее ввиду ее новизны и практической ценности. На поверхность зерен грунта наносят органические люминофоры, нерастворимые в воде (оксифенилбензоксазол, флуоресцеин в кислотной форме и другие), но растворимые в щелочных водных растворах. Эту операцию проводят следующим образом. Тонко измельченный люминесцентный краситель смешивают, например, в полулитровой колбе с одним граммом агарагара, растворенным предварительно в двухстах кубических сантиметрах воды. Полученную смесь выливают на 1 кг сухого песка и тщательно перемешивают. После просыхания песок готов к употреблению. Для установления стандартов пробу песка, окрашенного таким образом, промывают водой в течение суток (температура 14°) и, после просушки пробы, 50 г песка обрабатывают щелочью (40 см³ однопроцентной щелочи и 10 см³ воды). Части полученного раствора, разбавленные в соотношениях 1 : 10 000; 1 : 50 000; 1 : 100 000, принимаются за стандарты.

Подлежащую испытанию пробу грунта, взятую из водоема и содержащую меченые зерна песка, отмывают от примесей растворимых в воде солей, обрабатывают щелочным раствором, фильтруют и промывают водой; по интенсивности люминесценции полученного фильтрата определяют количество меченых зерен. Чувствительность предлагаемого способа достаточно высока и позволяет открывать меченые зерна грунта при их содержании даже столь малом, как 1 : 100 000.

5. Прием VI. Люминесцентная микроскопия

Возможность наблюдать люминесценцию веществ при ничтожно малом их содержании позволяет чрезвычайно эффективно использовать люминесцентную микроскопию, т. е. наблюдения люминесценции интересных объектов при больших увеличениях с применением микроскопа. При этом не только обнаруживаются отдельные люминесцирующие компо-

ненты микрообъекта, но и выявляется их локализация в нем. Если довольствоваться малым увеличением (в 80—100 раз), то можно возбуждать люминесценцию препарата, лежащего на столике микроскопа, освещая его ультрафиолетовыми лучами сверху-сбоку. При больших увеличениях объектив настолько приближен к объекту наблюдения, что необходимо наблюдать флуоресценцию при ее возбуждении не сверху, а снизу, как в обычном микроскопе. Для этого конденсор микроскопа должен быть прозрачен для ультрафиолетовых лучей, т. е. он должен быть сделан из увиолевого стекла или из иного, но обладающего в этом отношении такими же оптическими свойствами.

Стекло многих наших отечественных ходовых микроскопов вполне удовлетворяет этому условию и они с успехом могут быть использованы для люминесцентной микроскопии.

Для получения флуоресценции большей интенсивности необходимо, чтобы (как и во всякой оптической установке) вся система была хорошо собрана и прочно смонтирована. Обычно установка люминесцентного микроскопа слагается, помимо микроскопа, из следующих элементов: из источника, возбуждающего излучение, из светофильтра — черного стекла, — который поглощает видимую часть возбуждающего света, из прозрачной для ультрафиолетового излучения линзы, которая концентрирует падающий свет на нижнее зеркало-рефлектор микроскопа или на столик микроскопа, и из бледно-желтого светофильтра, надеваемого на окуляр; его назначение — предохранять глаз от фиолетовых лучей, которые проходят через вудовский светофильтр, если он для них немного прозрачен. Как ясно из вышесказанного, предметные стекла тоже должны быть прозрачны для ультрафиолетовых лучей, на покровные же это требование не распространяется.

Источники излучения, возбуждающего люминесценцию, подбирают применительно к длинам волн, которые лучше всего возбуждают исследуемый препарат. Так, в случае флуорохромированных биологических препаратов нередко пользуются видимым — синим и фиолетовым — светом (ср. гл. XVIII, стр. 311); для возбуждения некоторых неорганических веществ необходимо коротковолновое ультрафиолетовое излучение — искра (ср. гл. XIV, стр. 257). В большинстве случаев используются ртутные лампы (гл. VII). Для получения наибольшей яркости свечения надо, чтобы облученность достигала больших значений на небольшом участке — в точке наблюдения; для этого должен быть мал размер светящегося тела источника, как это имеет место у ртутных ламп сверхвысокого давления (ср. гл. VII, стр. 104).

Благодаря применению флуорохромов возможности использования люминесцентной микроскопии значительно расширились. В настоящее время ею пользуются во многих областях науки, практики и особенно успешно в биологии и медицине (см. гл. XVIII). Люминесцентную микроскопию с использованием наблюдений не только фото-, но и катодолюминесценции начали применять при исследовании минералов.

6. Прием VII. Применение люминесцентных экранов и кристаллофосфоров

Остановимся прежде всего на применении специально изготовляемых люминесцентных экранов для обнаружения ультрафиолетовых лучей; в зависимости от их длины волны они возбуждают те или иные компоненты, различающиеся по цвету свечения; таким образом, по цвету люминесцен-

ции можно судить о длине волны ультрафиолетового света, попавшего на данный участок экрана. Этот принцип цветовой трансформации использован Брумбергом [34] в успешно развиваемой им ультрафиолетовой микроскопии, основанной на установлении различия в поглощении отдельных структурных элементов (химических компонентов) исследуемых микрообъектов: свечение экрана вызывается только тем ультрафиолетовым светом, который остался непоглощенным при прохождении через микропрепарат. Этот же прием лежит в основе и ряда других приборов, сконструированных Брумбергом, как-то: ультрамикроскопа для исследования хроматограмм, ультрафиолетового колориметра для определения поглощения раствором ультрафиолетового света и др.

Люминесцентные экраны используют для контроля отливок из легких металлов: свечение экрана возбуждается рентгеновскими лучами, проходящими через детали. Детали двигаются по конвейеру и автоматически вращаются, пока проходят над рентгеновской трубкой. Контролер через смотровое окно из свинцового стекла, расположенное над экраном, по свечению экрана обнаруживает дефекты в деталях [35].

В ряде работ используют свойства кристаллофосфоров запасать световую сумму. Например, по ускорению высвечивания специально изготовленных пластинок из фосфора судят о распределении интенсивности ультразвука на поверхности излучателя: ультразвук поглощается и вызывает повышение температуры, обуславливающее высвечивание предварительно возбужденного фосфора [36]. По величине световой суммы, запасаемой фосфором при облучении β -, γ -лучами или нейтронами, определяют дозу излучения, проникшего до местонахождения фосфора [37], и т. д.

В этой главе мы рассмотрели примеры анализов для иллюстраций отдельных приемов и возможностей их использования. С применениями люминесцентного анализа в различных областях науки и практики читатель познакомится в главах X—XX.

ЛИТЕРАТУРА к гл. V

1. Э. В. Шпольский, УФН 68, вып. 1, 54 (1959).
2. А. А. Ильина, Изв. АН СССР, сер. физич. 15, № 6, 771 (1951).
3. П. П. Дикун, Доклад на VI Советании по люминесценции (Ленинград, февраль 1958); Вопросы онкологии, № 3, № 4 (1958); Гигиена и санитария, № 4, № 8 (1958).
4. Б. С. Непорент, ЖЭТФ 21, 172 (1951); Труды ГОИ 35, вып. 150, 3 (1957).
5. R. J. Keirs, R. D. Britt, W. E. Wentworth, Anal. Chem. 29, 202 (1957).
6. М. С. Цвет, Хроматографический адсорбционный анализ. Избранные работы, Изд. АН СССР, 1946, Москва.
7. М. Константинова-Шлезингер, Фармация, № 4, 26 (1943).
8. D. W. Criddle, R. L. Letourneau, Anal. Chem. 23, 1620 (1951).
9. H. Hellmann, P. Karlson, Naturwiss. 41, 178 (1954).
10. N. Pfennig, Naturwiss. 44, № 20, 537 (1957). Обнаружение пуриновых и пиримидиновых оснований на бумаге, люминесцирующей благодаря добавлению эскулина.
11. J. G. Kirchner, J. M. Miller, G. J. Keller, Anal. Chem. 23, № 3, 420 (1951). Разделение и идентификация некоторых терпенов методом, новым по технике выполнения.
12. L. Nanninga, B. Bink, Nature 168, № 4270, 389 (1951); H. Kraut, L. Wildemann, Biochem. Zs. 321, № 5, 368 (1951); K. Semm, R. Fried, Naturwiss. 39, № 14, 326 (1952).
13. А. Кuhn, Naturwiss. 42, 529 (1955). Фотоэлектрический фотометр, позволяющий измерять яркости свечения отдельных «пятен» на бумажной хроматограмме.
14. А. Müller, J. prakt. Chem. 154, 209 (1940).
15. H. Kautsky, H. Hoh, Kolloid. Zs. 75, 164 (1936).

16. R. Kuhn, H. Kaltschmidt, Ber. dtsch. chem. Ges. 68, 386 (1935).
17. H. Bierry, B. Gouzon, C. R. 200, 2116 (1935).
18. А. И. Костякова, Ж. аналит. химии 2, вып. 1, 27 (1947).
19. Ф. Д. Клемент, Труды института физики и астрономии, № 7, 3, Тарту, 1958. «О люминесцентных методах физико-химического анализа».
20. Г. В. Максимова, Диссертация, ИОНХ, 1955; Материалы V Совещания по люминесценции, стр. 197, Тарту, 1957.
21. К. Ю. Казема, А. К. Лиднере, Л. А. Лутс, Труды института физики и астрономии, № 7, Тарту, 1958; Ю. С. Леонов, Ж. неорг. химии 3, вып. 5, 1245 (1958). В этих работах изучались реакции в шихте из окиси цинка и борного ангидрида.
22. А. К. Трофимов, Изв. АН СССР, сер. физич. 23, № 11, 1356 (1959). Исследовалась реакция в системе $\text{CaO}-\text{Al}_2\text{O}_3$; ДАН 108, № 2, 277 (1956). Наблюдался ход реакций образования шпинелей MgAl_2O_4 и BeAl_2O_4 ; ДАН 104, № 3, 427 (1955). Наблюдалась реакция разложения сульфата алюминия.
23. В. В. Осико, Изв. АН СССР, сер. физич. 23, № 11, 1314 (1959); Ж. неорг. химии 5, вып. 2, 298 (1960). Показано образование фазы переменного состава $2\text{ZnO}(1+x)\text{SiO}_2$.
24. М. Найтингер, Die Fluoreszenzanalyse in der Mikrochemie, 1937, Wien—Leipzig.
25. P. W. Danckwort und J. Eisenbrand, Lumineszenzanalyse im filtrierten ultravioletten Licht, 1956, Leipzig.
26. J. Grant, Chem. a. Ind. (London) 56, 237 (1937).
27. S. C. Yanguly, Nature 151, 673 (1943); J. Chem. Phys. 13, 128 (1945). О флуоресценции антрацена в присутствии нафтацена.
28. P. Pringsheim, M. Vogel, Luminescence of liquids and solids, 127, New York, 1943. [Перевод: П. Прингсхейм и М. Фогель, Люминесценция твердых и жидких тел, ИЛ, 1948, Москва.]
29. J. A. Radley, Chem. Zbl. II, 1809 (1935); Chem. Zbl. I, 2879 (1936).
30. M. Deribéré, Les applications pratiques de la luminescence, стр. 129, 1955, DUNOD, Paris.
31. A. Guillard, P. Etrillard, C. R. 205, 77 (1937).
32. H. Brockmann, E. Beyer, Angew. Chem. 63, № 6, 133 (1951).
33. J. M. Miller, J. G. Kirchner, Anal. Chem. 23, № 3, 428 (1951).
34. В. В. Патрикеев и В. К. Матвеев, Способ определения наличия в пробе грунта меченых люминофорами или нелюминесцентными красителями зерен грунта. Авторское свидетельство, 1959; Транспортное строительство № 3, 21 (1957).
35. Е. М. Брумберг, УФН 43, № 4, 600 (1951).
36. T. E. Piper, J. A. Scheeman, Machinery 79, № 2039, 1025 (1951).
37. L. Rétermann, Phys. Acta 24, № 6, 596 (1951).
38. В. В. Антонов-Романовский, И. Б. Керим-Маркус, М. С. Порошина, З. А. Трапезникова, Сессия АН СССР по мирному использованию атомной энергии. Заседания физ.-мат. отд., стр. 342. Изд. АН СССР, М., 1955.

ГЛАВА VI

ФИЗИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИЗМЕРЕНИЙ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

Обнаружение малых количеств вещества по его люминесценции связано с наблюдением свечения малых интенсивностей. Поэтому желательно знать условия, которые влияют на наблюдаемую яркость люминесценции. Эти сведения дадут возможность воспользоваться наиболее выгодными способами возбуждения и обнаружения люминесценции. Кроме того, при количественном люминесцентном анализе необходимо обеспечить такие условия опыта, при которых измерения интенсивности люминесценции дают возможность надежно определять концентрацию исследуемых веществ. Для этого надо знать, как связана наблюдаемая интенсивность с концентрацией и как она зависит от условий опыта.

Цель настоящей главы состоит не столько в том, чтобы дать готовые схемы различных опытов, сколько в изложении общих соображений, которыми следует руководствоваться при выборе экспериментальной методики для решения той или иной конкретной задачи, стоящей перед исследователем*).

1. Поглощение возбуждающего света

При фотолюминесценции свечение возникает за счет поглощаемой энергии возбуждающего света. Очевидно, что чем больше энергия, поглощаемая в единице объема люминесцирующего вещества, тем больше и интенсивность люминесценции этого объема. Возбуждающий свет различных длин волн поглощается веществом неодинаково. Зависимость показателя поглощения от длины волны падающего света дается спектром поглощения (главы I и II). Поэтому для получения наиболее выгодных условий фотовозбуждения желательно знать спектр поглощения исследуемого вещества. Например, рассмотрение спектра поглощения раствора флуоресцеина (рис. 10) показывает, что обычно применяемое возбуждение люминесценции светом ртутной линии с длиной волны 366 мμ для этого вещества не очень выгодно. Более эффективным было бы возбуждение синим светом**).

Сведения о спектрах поглощения различных веществ имеются не всегда; для качественной оценки поглощения света различных длин волн в том

*) В дальнейшем изложении рассматривается люминесценция, возбуждаемая светом (фотолюминесценция). Однако все соображения о наблюдении и измерении люминесценции, изложенные в этой главе, справедливы и для других видов возбуждения (катодолюминесценции, рентгенолюминесценции и др.).

**) Очень часто исследователь, собирающийся применить метод люминесцентного анализа при исследовании какого-либо интересующего его вещества, ищет не всегда доступную кварцевую ртутную лампу, предполагая, что эта лампа является необходимым источником света. Однако нередко можно обойтись обычной лампой накаливания.

случае, если исследуемое вещество прозрачно (жидкость, пластмасса или монокристалл), можно воспользоваться следующим приемом.

На концентрированный раствор исследуемого вещества проектируется спектр ртутной лампы. О глубине проникновения лучей разных длин волн можно судить по длине их люминесцирующих следов в растворе: чем сильнее поглощение, тем короче след луча соответствующей длины волны. Для возбуждения люминесценции какого-либо вещества наиболее выгодным будет свет той длины волны, у которого след самый короткий.

2. Выход люминесценции

Свет люминесценции, возникший в каком-либо элементарном объеме люминесцирующего вещества, распространяется затем равномерно во все стороны, независимо от того, как был направлен возбуждающий свет. Интенсивность люминесценции мы будем оценивать величиной потока световой энергии, который испускается из единичного объема (например, из 1 см^3). При этом следует иметь в виду, что не вся поглощенная энергия возбуждающего света превращается в энергию люминесценции. После поглощения веществом возбуждающего света переход молекул в основное состояние может происходить и без испускания света. Поглощенная энергия может вызвать химические реакции (фотохимические) или перейти в тепло. Те вещества, которые называют люминесцентными, тем и отличаются от других, нелюминесцентных веществ, что в них часть возбужденных центров возвращается в основное состояние, испуская кванты света.

Эффективность процесса преобразования возбуждающей энергии в энергию люминесценции характеризуется выходом люминесценции (ср. гл. II).

Выходом люминесценции (энергетическим выходом) называется отношение энергии, испускаемой в виде люминесцентного излучения, к поглощенной энергии:

$$\eta = \frac{E}{A}. \quad (1)$$

Здесь η — энергетический выход, E — энергия люминесценции, A — поглощенная энергия возбуждения.

Для ярко люминесцирующих веществ (например, растворов флуоресцентных красителей) выход составляет десятки процентов и в отдельных случаях приближается к 100%. В случае фотолюминесценции, кроме энергетического выхода, вводится понятие квантового выхода*).

Квантовым выходом q называют отношение числа испускаемых при люминесценции квантов ($n_{\text{л}}$) к числу поглощенных квантов возбуждающего света ($n_{\text{п}}$):

$$q = \frac{n_{\text{л}}}{n_{\text{п}}}. \quad (2)$$

Так как энергия каждого кванта равна $h\nu$, то между энергетическим и квантовым выходами будет существовать соотношение

$$\eta = \frac{E}{A} = \frac{n_{\text{л}} \cdot h\nu_{\text{л}}}{n_{\text{п}} \cdot h\nu_{\text{п}}} = q \frac{\nu_{\text{л}}}{\nu_{\text{п}}}. \quad (3)$$

*) Понятие квантового выхода можно распространить на все случаи возбуждения квантами (рентгенолюминесценция, γ -люминесценция). В случае возбуждения частицами (например, катодолюминесценция) под квантовым выходом следует понимать отношение числа излученных квантов к числу поглощенных частиц.

Здесь ν_d — частота максимума в спектре люминесценции, ν_n — частота возбуждающего света. Это соотношение можно переписать и в длинах волн. Так как длина волны обратно пропорциональна частоте, то

$$\eta = g \frac{\lambda_n}{\lambda_d}.$$

Здесь λ_d — длина волны максимума в спектре люминесценции, а λ_n — длина волны возбуждающего света.

П р и м е р. Согласно последним измерениям квантовый выход флуоресценции раствора флуоресцеина в воде очень близок к единице, т. е. практически на каждый поглощенный квант возбуждающего света испускается один квант света люминесценции. Длина волны максимума в спектре флуоресценции флуоресцеина равна $\lambda_d = 515$ мк. Если возбуждение производится светом с $\lambda = 366$ мк (ртутная лампа с черным светофильтром), то энергетический выход будет равен

$$\eta = 1 \cdot \frac{366}{515} = 69\%.$$

Согласно закону Вавилова, квантовый выход люминесценции не зависит от длины волны возбуждающего света. Если мы возьмем для возбуждения свет другой ртутной линии с $\lambda = 436$ мк (синяя линия), то энергетический выход будет равен

$$\eta = 1 \cdot \frac{436}{515} = 85\%.$$

Отсюда следует, что наиболее выгодным оказывается возбуждение более длинноволновым светом. В случае раствора флуоресцеина (см. стр. 78) возбуждение синим светом оказывается более выгодным еще и потому, что синий свет сильнее поглощается раствором, чем ультрафиолетовый с $\lambda = 366$ мк.

3. Факторы, влияющие на яркость люминесценции

а) *Толщина люминесцирующего слоя.* Предположим сначала, что люминесценция возбуждается равномерно по всему объему люминесцирующего тела. Если свет люминесценции не поглощается в самом люминесцирующем теле, то яркость, наблюдаемая, например, глазом, будет, очевидно, тем больше, чем толще слой раствора по направлению луча зрения. Действительно, каждый слой молекул будет давать свой вклад, и чем больше таких слоев, тем больше будет наблюдаемая яркость.

Отсюда вытекает правило: для наиболее выгодного наблюдения люминесценции нужно использовать наибольшую толщину люминесцирующего слоя в направлении луча зрения.

Например, если люминесцирующий раствор находится в пробирке (и равномерно светится по всему объему пробирки), то наибольшая яркость будет наблюдаться вдоль оси пробирки.

Эти же соображения справедливы и в том случае, когда интенсивность люминесценции распределена по объему люминесцирующего тела неравномерно. И в этом случае, если сумма яркостей всех слоев в направлении луча зрения максимальна, то максимальной будет и наблюдаемая яркость люминесценции.

б) *Распределение энергии в спектре источника возбуждения.* Изложенные выше соображения справедливы для источника возбуждающего света

с равномерным распределением энергии по разным длинам волн. Однако имеющиеся источники, как правило, не обладают таким распределением, поэтому для создания наиболее выгодных условий возбуждения люминесценции нужно иметь представление о распределении энергии в разных областях спектра у различных источников света и об общей их мощности. Соответствующие данные приведены в следующей, VII главе; ими следует руководствоваться при выборе источника света для возбуждения. Иллюстрируем сказанное следующим примером. Виллемит, как и многие минералы, люминесцирует при возбуждении только коротковолновым ультрафиолетовым светом. Поэтому для возбуждения люминесценции виллемита казалось бы целесообразным применить ртутную лампу низкого давления, в излучении которой имеется почти только резонансная линия (254 мкм). Однако для получения наибольшей яркости лучше все же использовать ртутную лампу ПРК (см. главу VII), в которой, хотя линия 254 мкм относительно слабее других линий, но абсолютная ее мощность превосходит мощность этой же линии в лампе низкого давления.

в) *Концентрация люминесцирующего вещества.* Показатель поглощения k (стр. 18) равен произведению молекулярного показателя поглощения данного вещества σ на концентрацию C этого вещества (C — число молекул поглощающего вещества в 1 см³ раствора). Поглощение света слоем раствора толщиной l определяется выражением (см. главу I):

$$I = I_0 e^{-kl} = I_0 e^{-\sigma C l},$$

где I_0 — интенсивность света, падающего на слой, I — интенсивность прошедшего света.

Из этой формулы видно, что поглощение раствором данного вещества возбуждающего света одинаково во всех случаях, когда равны произведения его концентрации C на длину пути l света в растворе.

Рассмотрим два предельных случая зависимости наблюдаемой яркости от концентрации люминесцирующего вещества.

1-й случай. Концентрации настолько малы, что люминесцирующим слоем по всей его толщине поглощается лишь небольшая часть возбуждающего света. Эта часть пропорциональна концентрации люминесцирующего вещества, следовательно, и поток люминесцентного излучения, возникающего в единице люминесцирующего объема, тоже будет пропорционален концентрации C . Ввиду малой потери возбуждающего света при прохождении через всю толщину люминесцирующего слоя, этот слой будет светиться практически равномерно по всему объему. Отсюда получаем правило: при малых концентрациях люминесцирующего вещества яркость его люминесценции пропорциональна концентрации при наблюдении по любому направлению.

2-й случай. Концентрации настолько велики, что весь возбуждающий свет поглощается полностью, не доходя до второй границы исследуемого слоя люминесцирующего вещества. Если мы будем наблюдать люминесценцию спереди, т. е. со стороны падающего света, то наблюдаемая яркость не будет зависеть от концентрации, так как при любых концентрациях вся энергия падающего возбуждающего света используется полностью (изменяется только глубина проникновения возбуждающего света). Отсюда правило: при полном поглощении возбуждающего света

наблюдаемая спереди яркость люминесценции не зависит от концентрации*).

Соотношение между концентрацией и наблюдаемой яркостью получается более сложным, если вести наблюдение в направлении, перпендикулярном к направлению возбуждения.

Интересно, что и в этом случае возможно приблизительно оценить отношение концентрации двух растворов одного и того же вещества. Для этого на глаз сравнивают длину светящегося следа, который в каждом из растворов оставляет на своем пути пучок возбуждающего света до полного поглощения. Чем больше концентрация люминесцирующего вещества, тем след короче.

г) *Вторичное поглощение (реабсорбция) света люминесценции.* Как видно из рис. 10—12, в ряде случаев спектры поглощения и люминесценции одного и того же вещества несколько перекрываются. Вследствие этого излучение на пути от глубоких слоев к поверхности раствора ослабляется в коротковолновой части спектра люминесценции. Это явление носит название вторичного поглощения или реабсорбции света люминесценции.

Вследствие реабсорбции может изменяться цвет и яркость люминесценции одного и того же светящегося объема, в зависимости от направления наблюдения. Например, если наблюдать люминесценцию концентрированного водного раствора флуоресцеина со стороны, с которой падает возбуждающий свет, то мы увидим яркую зеленую люминесценцию; возбуждающий свет поглощается вблизи передней стенки, свет люминесценции не проходит большой толщи раствора и, следовательно, реабсорбция невелика. При наблюдении же с противоположной стороны (на просвет) мы увидим более слабое красноватое свечение вследствие того, что вся коротковолновая часть спектра люминесценции «отрежется» в результате реабсорбции.

Наличие реабсорбции ставит предел возрастанию наблюдаемой яркости при увеличении толщины люминесцирующего слоя.

Наблюдаемая яркость люминесценции пропорциональна толщине люминесцирующего слоя только в том случае, если свет люминесценции не поглощается в самом растворе. Если же свет люминесценции поглощается в самом люминесцирующем веществе, то не имеет смысла бесконечно увеличивать толщину люминесцирующего слоя: все равно, начиная с какой-то глубины, свет не дойдет до глаза наблюдателя, так как полностью поглотится на своем пути.

4. Приемники излучения

Для наблюдения и измерения интенсивности люминесценции (фотометрии) применяют различные приемники излучения, т. е. устройства, регистрирующие падающий на них свет. В качестве таких приемников могут служить человеческий глаз (визуальное наблюдение), фотоэлемент, фотоумножитель, фотопластинка, термостолбик, болометр и т. д.

Целесообразно различать приемники двух типов: селективные и неселективные. Неселективные приемники реагируют на полную мощность падающего на них излучения, независимо от его длины волны. К числу таких приемников относятся, например, термостолбики и болометры.

*) Это, разумеется, не выполняется в тех случаях, когда с изменением концентрации изменяется выход люминесценции (концентрационное тушение).

В них все падающее на приемник излучение превращается в тепло и вызываемое этим повышение температуры измеряется по величине электродвижущей силы, возникающей в спаях термостолбика, или по изменению электрического сопротивления в болометре. В практике люминесцентного анализа тепловые неселективные приемники не применяются в связи с их малой чувствительностью.

Селективные приемники регистрируют излучение в определенных интервалах длин волн. Так, человеческий глаз видит свет только в области длин волн от 400 мкм до примерно 720—750 мкм, с максимумом чувствительности при 555 мкм. Несенсибилизированные фотопластинки чувствительны к ультрафиолетовому свету и к видимой области спектра примерно до зеленой ее части. Специально сенсибилизированные фотопластинки (ортохроматические, панхроматические) чувствительны и к остальной части видимой области и могут быть очувствлены даже к инфракрасным лучам. Фотоэлементы, в зависимости от состава и обработки их катодов, обладают границами чувствительности, различающимися в широких пределах. Подробнее о спектральной чувствительности фотоэлементов и фотомножителей и о работе с ними см. в следующей главе.

а) *Особенности регистрации излучения приемниками различных типов.* При любом взаимном расположении люминесцирующего (вообще светящегося) источника и приемника излучения последний регистрирует всегда только часть светового потока, испускаемого источником. Ее можно изменять, перемещая источник и приемник относительно друг друга, а также применяя различные оптические приспособления, располагаемые между ними. В результате при одном и том же суммарном потоке света, испускаемом источником, приемник будет давать различные показания.

При этом следует различать приемники двух типов. В приемниках первого типа регистрируется весь поток света, падающий на чувствительную поверхность приемника. Примером может служить фотоэлемент, у которого количество выбиваемых из катода электронов, а следовательно, и фотоэлектрический ток, пропорциональны числу падающих на катод квантов света, независимо от того, на какое место катода попадают эти кванты.

В приемниках второго типа регистрируется не весь поток, падающий на поверхность приемника, а освещенность этой поверхности, т. е. мощность, которая приходится на единицу поверхности. Так, например, почернение каждого участка фотопластинки зависит только от того, сколько квантов света попадет на рассматриваемый участок, а не от всего потока, падающего на всю пластинку.

Следующий пример поясняет, к чему приводит такое различие в типах приемников. Предположим, что фотоэлемент и фотопластинки с равными приемными площадями расположены на некотором расстоянии от источника света. Измерим фототок и почернение фотопластинки. Затем поставим линзу, которая собирает каждый из падающих на оба приемника потоков на меньшую часть их поверхности. Фототок в фотоэлементе при этом не изменится, а на фотопластинке мы получим очень большое почернение в одном месте, а остальная часть пластинки останется непочерневшей.

Отсюда правило: в приемниках первого типа для наилучшего их использования мы должны обеспечить условия, при которых на чувствительную поверхность приемника попадает возможно большая часть полного потока источника; в приемниках второго типа регистрируемый

поток должен попадать на возможно меньшую часть его поверхности.

Применение различного рода оптических приспособлений (линз, зеркал) должно соответствовать типу приемника.

б) *Предел чувствительности приемников излучения.* Каждый приемник излучения имеет определенный предел чувствительности.

Так, если яркость наблюдаемого предмета ниже некоторого определенного предела (порога зрения), то глаз его не видит.

При фотографировании, если освещенность фотопластины меньше минимально допустимой, то нельзя скомпенсировать малую освещенность увеличением времени экспозиции, так как в фотографической эмульсии протекают процессы, разрушающие слабое скрытое изображение.

В фотоэлементах и тогда, когда свет на них не падает, имеется некоторый ток (темновой ток). Этот ток не постоянен: его сила колеблется беспорядочно со временем (флуктуации темнового тока). Если ток, создаваемый светом, падающим на фотоэлемент, меньше колебаний темнового тока (темнового «шума»), то измерить его чрезвычайно трудно, поэтому в некоторых случаях очень важно с помощью различных оптических приспособлений так использовать свет от изучаемого источника, чтобы получить на поверхности приемника излучения освещенность или световой поток не ниже предельных.

в) *Применение оптических приспособлений.* Световой поток от источника света на пути к освещаемому предмету может испытывать преломления и отражения в деталях оптических приспособлений (линз, зеркал), которые изменяют направление световых лучей. При этом в любой точке освещенность, т. е. световой поток, попадающий на единицу освещаемой поверхности, можно представить как сумму освещенностей, создаваемых отдельными лучами света, начинающимися на поверхности источника и собирающимися в освещаемую точку. Чем больше световой поток в каждом луче и чем больше таких лучей сходится в рассматриваемую точку (другими словами, чем шире угол схождения лучей), тем больше в ней освещенность. Отсюда следует, что освещенность E , создаваемая каким-либо источником света на некоторой поверхности, равна произведению яркости B^* источника на телесный угол ω , под которым лучи света сходятся на этой поверхности, независимо от того, освещает ли источник поверхность непосредственно или между источником и поверхностью расположены какие-либо оптические приспособления:

$$E \text{ (освещенность)} = B \text{ (яркость)} \cdot \omega \text{ (телесный угол)}.$$

Написанное соотношение (формула Манжена) дает возможность оценить эффективность применения какого-либо оптического приспособления без детального рассмотрения его устройства.

Рассмотрим некоторые примеры.

Предположим, что мы регистрируем излучение какого-либо источника с помощью фотопластины, расположенной на некотором расстоянии от этого источника. Освещенность в отдельных точках пластины будет равна произведению яркости источника на телесный угол, под которым виден источник из рассматриваемой точки фотопластины. Телесный угол

*) Яркостью источника света называется поток света, идущий с единицы поверхности источника в единицу телесного угла. Телесный угол измеряется отношением поверхности, вырезанной им на сфере, описанной из вершины угла, к квадрату радиуса этой сферы.

равен в данном случае площади источника, деленной на квадрат расстояния его от пластинки.

Если поставить линзу, дающую изображение источника на пластинке, то яркость источника останется, прежней, но второй множитель, телесный угол, теперь будет равен площади линзы, деленной на квадрат расстояния ее до пластинки.

Если этот угол окажется больше, чем в отсутствии линзы, то мы получим выигрыш в освещенности пластинки (а следовательно, и в почернении), если же меньше, то освещенность уменьшится. В случае равных углов не следует пользоваться линзой из-за потери света при отражении от ее поверхностей *).

Рассмотрим другое важное следствие, вытекающее из соотношения Манжена.

Предположим, что мы визуально наблюдаем светящийся предмет. Ощущение яркости определяется освещенностью сетчатки глаза в том месте, где получается изображение светящегося предмета. В этом случае освещенность равна яркости предмета, умноженной на телесный угол схождения лучей от зрачка к сетчатке.

Этот телесный угол не изменится, если удалять предмет, не изменится, следовательно, и воспринимаемая глазом яркость предмета (величина изображения, конечно, уменьшится). Отсюда правило: *наблюдаемая глазом яркость светящихся предметов не зависит от расстояния до этих предметов*. Отличие глаза от других оптических приборов заключается в том, что в нем расстояние от зрачка до сетчатки остается неизменным. При определении же освещенности, получаемой с помощью оптических приборов, необходимо учитывать изменение расстояния от линзы до изображения. Поясним это на примере. Предположим, что мы фотографируем люминесцирующее тело, находящееся от фотоаппарата на большом расстоянии. В этом случае фотопластинка находится почти в главном фокусе объектива и, следовательно, телесный угол схождения лучей равен площади объектива, деленной на квадрат главного фокусного расстояния.

Если мы захотим сфотографировать этот же предмет в натуральную величину, то мы поместим его на двойном фокусном расстоянии от объектива и на такое же расстояние от объектива отодвинем фотопластинку. Телесный угол схождения лучей, а следовательно, и освещенность уменьшатся в четыре раза (два в квадрате); во столько же раз надо увеличить экспозицию.

Соотношение Манжена позволяет просто решать постоянно возникающий при использовании спектральных приборов вопрос, в каких случаях следует применять конденсорную линзу для получения изображения источника света на щели спектрального прибора, иными словами, в каких случаях можно с помощью конденсорной линзы увеличить освещенность изображения спектра.

В данном случае телесный угол определяется площадью второго объектива спектрального прибора (дающего изображение спектра) и его фокусным расстоянием. Сказанное справедливо при условии, что весь объектив заполнен светом и во все точки изображения щели свет идет со всей поверхности объектива.

Если свет от исследуемого источника (например, флуоресцирующего раствора) заполняет весь первый объектив коллиматора и, следовательно,

*) Потеря света из-за отражения от одной поверхности стеклянной линзы равна примерно 4%. Потеря от двух поверхностей — около 8%.

площадь второго объектива, дающего изображение спектра, использована максимально, то телесные углы, под которыми сходятся лучи, дающие изображение спектра, имеют максимальное значение; следовательно, и освещенность изображения спектра, которую можно получить с данным прибором, получается при этом наибольшей — применение конденсорной линзы увеличить ее не может.

Таким образом, если люминесцирующий объект имеет большую площадь и свет от него заполняет весь объектив коллиматора, то применение конденсорной линзы бесцельно.

В случае же люминесцирующего объекта малых размеров следует поставить конденсорную линзу, выбрав ее диаметр и фокусное расстояние так, чтобы заполнить светом весь объектив коллиматора.

5. Измерения интенсивности люминесценции

Для измерения интенсивности люминесценции может быть использован любой из фотометров, применяемых в оптике или в светотехнике.

Типы и конструкции фотометров зависят от используемого в них приемника излучения.

Рассмотрим особенности фотометров с разными типами приемников.

а) *Визуальное фотометрирование.* Фотометрия, в которой приемником является глаз, называется визуальной фотометрией. Глаз человека отличается крайне высокой чувствительностью к видимому свету, и хотя в настоящее время начинают широко применять фотометры с фотоэлементами и с фотоумножителями, визуальная фотометрия еще долго останется удобным средством не только наблюдения, но и измерения интенсивности люминесценции.

Визуальное измерение основано на том, что глаз может устанавливать равенство или неравенство яркостей двух поверхностей. Благодаря этому свойству глаз используется в фотометрии как «нулевой прибор», т. е. прибор, регистрирующий отсутствие разницы в яркостях двух сравниваемых поверхностей. По тому же принципу работают все приемники второго типа, т. е. реагирующие на освещенность их чувствительной поверхности.

Точность установления глазом равенства яркостей двух поверхностей (двух фотометрических «полей сравнения») зависит в первую очередь от следующих двух условий.

Во-первых, сравниваемые поля должны вплотную соприкасаться друг с другом так, чтобы граница раздела между ними исчезла при установлении равенства яркостей.

Во-вторых, цвет поверхностей должен быть одинаковым*). Установление равенства яркостей разноцветных поверхностей может быть лишь приблизительным.

В соответствии с этими условиями в визуальных фотометрах 1) всегда сравнивают излучения двух источников: измеряемого и источника сравнения; 2) имеется оптическое устройство, сводящее лучи света от двух сравниваемых источников так, чтобы в глаз они попадали от двух смежных полей сравнения; 3) имеется приспособление для ослабления яркости того или другого поля в известное число раз, до достижения равенства яркостей (см. гл. VII).

*) При выполнении этих условий равенство яркостей может быть установлено с точностью до 1–2%. Это относится к хорошо освещенным поверхностям. При малых яркостях ошибка визуального фотометрирования возрастает до 10% и более.

Установив такое равенство, мы по отсчитываемому ослаблению яркости одного из двух источников определяем, во сколько раз он ярче другого.

б) *Фотографическое фотометрирование*. При фотографической фотометрии используется следующее правило. Если на два соседних участка фотопластинки (или фотоленки) падают в течение равного времени два потока одинакового спектрального состава, создающие на поверхности пластинки одинаковую освещенность, то после проявления почернения обоих участков будут одинаковыми. Таким образом, фотографический метод фотометрии тоже представляет собой нулевой метод.

Исходя из этого положения, при сравнении интенсивностей двух источников необходимо иметь возможность ослаблять свет одного из них в известное число раз, чтобы подогнать освещенность, создаваемую им на фотопластинке, к освещенности, создаваемой другим источником. Обычно это делается с помощью так называемых ступенчатых ослабителей. Эти ослабители представляют собой стеклянную или кварцевую пластинку, на которую напылены слои платины различной толщины, ослабляющие свет в определенное число раз. Фотографируя свет через такую пластинку, получаем ряд ступеней почернения, из которых каждая соответствует определенному ослаблению. По этим ступеням могут быть построены так называемые характеристические кривые, т. е. кривые зависимости почернений от интенсивности света для различных участков спектра. Сравнивая почернение, полученное от неизвестного источника, с характеристической кривой, можно определить его интенсивность (о подробностях см. С. Л. Мандельштам, Введение в спектральный анализ, Гостехиздат, М., 1946).

Следует заметить, что фотографическая фотометрия принадлежит к довольно трудоемким и длительным операциям и прибегать к ней следует только в исключительных случаях. Преимуществом ее служит то, что путем увеличения длительности экспозиции можно все же получить достаточное почернение и при малой яркости объектов; кроме того, фотоснимок сохраняется в виде документа. Фотографическая фотометрия полезна также при измерении ультрафиолетовой люминесценции.

в) *Фотоэлектрическое фотометрирование*. В фотоэлектрическом методе фотометрии, в противоположность двум предыдущим нулевым методам, не требуется источника сравнения. Сила фототока прямо пропорциональна потоку света, падающему на катод фотоэлемента (или фотоумножителя). Поэтому, измерив фототоки, получаемые при помещении перед фотоэлементом эталонных образцов (например, растворов с разной концентрацией люминесцирующего вещества), строим градуировочную кривую и в дальнейшем по ней определяем искомую концентрацию раствора, яркость которого измеряем *).

6. Относительное расположение источника возбуждения, люминесцирующего объекта и фотометра

Возможны три основные схемы расположения источника возбуждения, люминесцирующего объекта и фотометра.

а) Приемник *П* и источник *И* находятся по одну сторону от объекта *О* (рис. 25, а).

*) В условиях люминесцентного анализа исследуемые растворы нередко содержат тушащие примеси (например, в случае эстрагирования из биологических объектов); в этом случае эталонные растворы должны содержать те же примеси, как и исследуемые.

б) Наблюдение производится «на просвет»: источник, объект и приемник находятся на одной прямой (рис. 25, б).

в) Наблюдение производится в направлении, перпендикулярном к направлению возбуждающего света (рис. 25, в).

При выборе схемы установки следует помнить, что приемник люминесцентного излучения может реагировать и на возбуждающий свет. Это, конечно, нежелательно. Один из способов исключения обусловливаемой этим засветки заключается в применении «скрещенных светофильтров»:

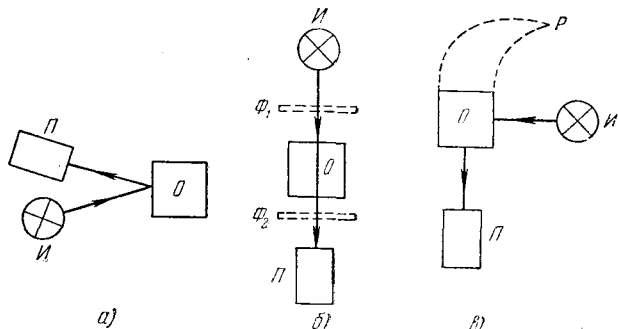


Рис. 25. Расположение источника возбуждения И, люминесцирующего объекта О и фотометра П.

между источником возбуждения и люминесцирующим объектом помещают светофильтр, прозрачный для возбуждающего света, но задерживающий свет от источника в интервале тех длин волн, которые попадают в область спектра люминесценции (светофильтр Φ_1 , рис. 25, б). На пути же лучей от объекта к приемнику ставится второй светофильтр, Φ_2 , прозрачный для света люминесценции, но не пропускающий возбуждающего света.

Из трех схем, изображенных на рис. 25, наиболее опасна в смысле засветки установка б; применение скрещенных светофильтров в этом случае обязательно. Однако засветка возбуждающим светом может происходить и в других схемах, в особенности если люминесценция обладает малым выходом, а чувствительность приемника к возбуждающему свету велика. Причина засветки заключается в том, что возбуждающий свет может рассеиваться стенками сосуда или поверхностью люминесцирующего объекта. В случае а примесь рассеянного возбуждающего света неизбежна, так как приемник направлен на освещенную этим светом поверхность. В случае в пучок возбуждающего света следует ограничить так, чтобы он не касался боковых стенок сосуда; этим можно почти полностью исключить попадание возбуждающего света в приемник. Если, кроме того, люминесцирующий объем поместить в сосуд, загнутый сзади в виде «рога» Р (окрашенного черной краской), то засветка будет практически полностью исключена (метод черного фона). Схема б практически не применяется. Однако для наблюдения фосфоресценции (послесвечения), когда оно ведется после прекращения возбуждения, это расположение, удобное конструктивно, может быть полезным.

7. Некоторые примеры

В заключение этой главы на конкретных примерах рассмотрим возможности применения изложенных в ней соображений.

Рассмотрим схему устройства фотометра Пульффриха, выпускаемого нашей промышленностью под маркой «ФМ». В нем два сравниваемых источ-

ника света помещаются перед входными отверстиями фотометра, за которыми находятся квадратные диафрагмы. Отверстия в этих диафрагмах с помощью двух измерительных барабанов могут уменьшаться или увеличиваться, причем на шкалах барабанов имеются числа, пропорциональные площадям отверстий. Дальнейшей оптической системой лучи от обоих источников сводятся, и окулярная линза дает изображения диафрагм на зрачке глаза. Таким образом, от обоих источников в глаз попадает доля потока, пропорциональная площади отверстия соответствующей диафрагмы. Устанавливая путем вращения барабанов поля сравнения на равенство, мы по отношению отсчетов на шкалах барабанов определяем отношение интенсивностей исследуемых источников.

Однако сказанное справедливо только в том случае, если отверстия диафрагм равномерно заполнены светом. Только в этом случае поток света от источника будет действительно пропорционален площади отверстия в соответствующей диафрагме. Перед началом работы с прибором необходимо с помощью подвижной лупы, находящейся около окуляра, проверить, заполнены ли светом изображения отверстий диафрагм.

Другая особенность этого фотометра также связана с примененным в нем способом ослабления видимой яркости. Изображение диафрагмы на зрачке глаза должно быть по размеру меньше отверстия зрачка, так как иначе при раскрытии диафрагмы края ее изображения выйдут за пределы зрачка. При больших воспринимаемых глазом яркостях зрачок имеет диаметр не больше двух миллиметров. Фотометр предназначен для измерения обычных яркостей, поэтому изображение диафрагмы на зрачке в ее самом раскрытом виде сделано не превышающим 1 мм.

Когда глаз человека приспособливается к малым яркостям, то зрачок расширяется и его диаметр может достигать до 8—9 мм. Вследствие этого, согласно соотношению Манжена, освещенность сетчатки возрастает во много раз и благодаря этому мы можем воспринимать малые яркости.

Однако такая возможность не может быть использована при оптической системе фотометра Пульфриха: действующая поверхность зрачка всегда ограничена отверстием диафрагмы и наблюдаемая в приборе яркость всегда меньше воспринимаемой непосредственно. Таким образом, фотометр этого типа мало пригоден для измерения малых яркостей, с которыми мы часто имеем дело при люминесцентном анализе.

При отсутствии готового фотометра можно своими силами сделать простой фотометр, для которого не требуется оптических деталей, кроме обычных очковых линз, и который может быть изготовлен при наличии хорошей механической мастерской. В этом фотометре площадь зрачка глаза используется полностью, а видимая яркость измеряемого объекта наблюдается почти не ослабленной, так как на пути лучей не имеется никакой оптики, кроме одной линзы. Такой фотометр был сконструирован в Физическом институте АН СССР им. П. Н. Лебедева Аленцевым специально для измерения интенсивности слабой люминесценции. Им же был использован осветитель Вуда для измерений люминесценции сильно разбавленных растворов. Описание этих установок см. в гл. VII, стр. 117 и 120.

В заключение отметим, что не всегда обязательно использовать прецизионную аппаратуру для получения полноценных результатов. Иногда полуквантитативная оценка, осуществляемая простейшими приемами, может оказаться более полезной именно вследствие своей простоты. Иллюстрируем сказанное следующим примером. Для определения концентрации интересующего вещества иногда применяют такой прием. Раствор этого вещества постепенно разбавляют и наблюдают его люминесценцию при

постоянном возбуждении до тех пор, пока глаз перестанет обнаруживать следы свечения. По степени потребовавшегося разбавления судят о величине исходной концентрации. По существу, это обычное фотометрирование, только в качестве эталонной яркости взят порог чувствительности глаза. При соблюдении определенных условий (полная адаптация глаза на темноту, наблюдение всегда с одного и того же расстояния) таким путем можно оценивать концентрации с ошибкой, не превышающей 100% от измеряемой величины; такая точность во многих случаях достаточна, когда измеряют очень малые количества вещества.

ЛИТЕРАТУРА к гл. VI

1. Ф. Вейгерт, Оптические методы химии, Гостехиздат, 1938.
 2. W. E. Forsythe, Measurement of radiant Energy, New York and London, 1937.
 3. С. Л. Манделштам, Введение в спектральный анализ, Гостехиздат, 1946.
 4. Дж. Гаррисон, Р. Лорд и Дж. Луфбуров, Практическая спектроскопия, М.—Л., 1950.
-

ГЛАВА VII

ИСТОЧНИКИ ВОЗБУЖДЕНИЯ; ИЗМЕРЕНИЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ; АППАРАТУРА

А. ИСТОЧНИКИ ВОЗБУЖДЕНИЯ

1. Выбор источника. Светофильтры

В практике люминесцентного анализа наиболее часто встречаются объекты, люминесценция которых хорошо возбуждается длинноволновым ультрафиолетовым излучением с длиной волны, большей 300—320 *мк*, видимым светом — синим и фиолетовым, и, наконец, некоторые вещества, преимущественно неорганические, возбуждаемые только коротковолновым ультрафиолетовым излучением (меньше 280 *мк*). Инфракрасная люминесценция, используемая в люминесцентном анализе сравнительно редко, возбуждается видимым светом.

Желательно, чтобы у источника, применяемого для возбуждения фотолюминесценции, необходимое для этого излучение составляло по возможности большую долю общего излучения.

Свет источника в видимой области спектра мешает наблюдению и измерению люминесценции и его приходится убирать с помощью светофильтров, пропускающих возбуждающее излучение и поглощающих мешающую область спектра. Это не всегда просто и связано с тем меньшими трудностями, чем большая доля излучения источника приходится на участок спектра, необходимый для возбуждения. Кроме того, неиспользуемое излучение источника переходит в конечном счете в тепло, что приводит к нежелательному перегреву светофильтра, других частей аппаратуры, а также и наблюдаемого объекта. В тех случаях, когда аппаратура предназначена для полевых условий, важно, чтобы источник возможно экономнее использовал потребляемую им энергию.

Как ясно из сказанного, источники в большинстве случаев употребляются совместно со светофильтрами, которые выделяют нужный спектральный участок излучения.

Светофильтром может служить всякая среда, пропускающая часть падающего на нее излучения и задерживающая (поглощающая) остальную. Удобнее других, а следовательно, и наиболее употребительны, стеклянные светофильтры в виде плоскопараллельных полированных пластин. Иногда употребляются жидкостные и даже газовые светофильтры; в них поглощающий раствор (или газ) помещают в кюветы с параллельными плоскими стенками из прозрачного стекла или оптического кварца.

Нашей промышленностью освоено и выпускается большое количество марок цветного стекла, из числа которых почти всегда можно

выбрать подходящий светофильтр или комбинацию нескольких светофильтров *).

Как известно, коэффициент пропускания монохроматического излучения с длиной волны λ для данной поглощающей среды определяется выражением

$$T_{\lambda} = \frac{I_{\lambda}}{I_{0\lambda}} = e^{-k_{\lambda}d},$$

где T_{λ} — коэффициент пропускания; I_{λ} и $I_{0\lambda}$ — интенсивности (потоки) прошедшего и падающего монохроматического излучения; d — толщина образца; k_{λ} — показатель поглощения среды, зависящий от длины волны падающего света **).

Иногда предпочитают для пропускания пользоваться выражением

$$T_{\lambda} = 10^{-E_{\lambda}d}.$$

Здесь показатель поглощения $E_{\lambda} = k_{\lambda} \cdot \lg e = 0,4343 k_{\lambda}$.

Необходимо учитывать, что на границе двух сред [воздух — стекло] происходит частичное отражение света. У реальных светофильтров это отражение происходит на обеих поверхностях пластины. Поэтому фактическое пропускание должно иметь вид

$$T'_{\lambda} = (1 - r)^2 \cdot e^{-k_{\lambda}d}.$$

У большинства стекол r (коэффициент отражения) близок к 0,04, и обычно можно считать $(1 - r)^2 \approx 0,92$. Более точные значения r для каждой марки стекла указаны в «Каталоге цветного стекла».

Для ряда расчетов, связанных с фильтрами, бывает удобнее пользоваться так называемой оптической плотностью фильтра D_{λ} :

$$D_{\lambda} = -\lg T_{\lambda} = E_{\lambda}d = 0,4343k_{\lambda}d.$$

С учетом отражения $D'_{\lambda} = -\lg T'_{\lambda} = D_{\lambda} + D_r$, где $D_r = -2 \lg(1 - r)$.

Наибольший интерес для люминесцентного анализа представляют стекла марок УФС, предназначенные для выделения ультрафиолетового излучения. На рис. 26 приведены кривые пропускания существующих марок ультрафиолетовых и фиолетовых стекол при толщинах фильтров в 2 мм без учета потерь на отражение.

Участок спектра, пропускаемый фильтром, или, как принято говорить, полоса пропускания, обычно определяется теми длинами волн, при которых пропускание фильтра равно половине максимального. Таким образом, полоса пропускания УФС1 при толщине 2 мм лежит в области примерно 250—400 мкм. Фактически такой фильтр пропускает, конечно, несколько более широкую полосу: например, в области длин волн около 240 и 420 мкм он пропускает 10% падающей энергии. Такой фильтр применяется, когда нужно «вырезать» из излучения источника широкую полосу ультрафиолетового излучения, главным образом его коротковолновый участок.

Недостатком фильтра УФС1, как и некоторых других фильтров, пропускающих коротковолновое ультрафиолетовое излучение (УФС2, СЗС14, ЗС7, ПС11, БС1), является сравнительно малая стабильность: под влиянием ультрафиолетового облучения их пропускание со временем изменяет-

*) Подробные данные о цветном стекле содержатся в «Каталоге цветного стекла» (Гос. изд. оборонной промышленности, М.), который прилагается к набору образцов.

**) Для растворов коэффициент k_{λ} пропорционален концентрации: $k_{\lambda} = \sigma_{\lambda} \cdot C$, где C — концентрация.

ся. В готовых пластинах, поставляемых промышленностью, этот недостаток сведен до минимума с помощью защитных алюмосиликатных пленок, которыми покрыты полированные поверхности пластины.

Стекло УФС2 служит для выделения области 270—380 мкм и практически полностью задерживает видимый свет; поэтому в тех случаях, когда нет надобности в более коротковолновом излучении, этот светофильтр имеет преимущества перед УФС1.

Широкое применение находит стекло УФС3*), являющееся хорошим фильтром для длинноволнового ультрафиолетового излучения в области 320—390 мкм. Оно применяется для этой цели с различными источниками: лампами накаливания, ртутными лампами.

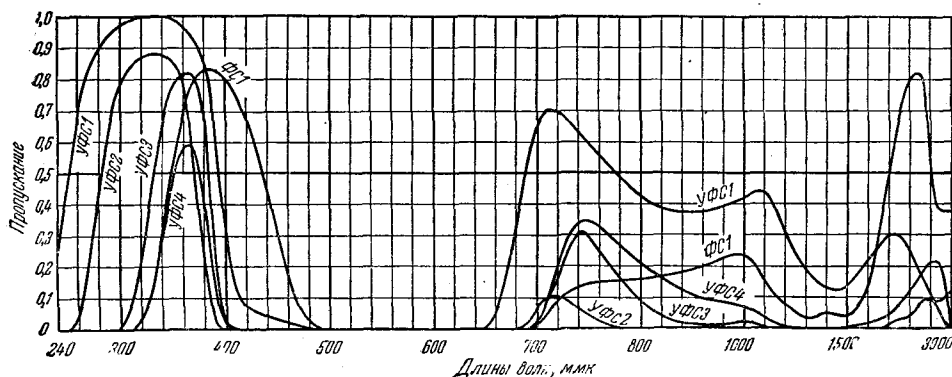


Рис. 26. Кривые пропускания стекол УФС1, УФС2, УФС3, УФС4 и ФС1 при толщине 2 мм; в инфракрасной области масштаб по оси длин волн сокращен (так же, как и на рис. 27 и 29).

Стекло УФС4 отличается от УФС3 несколько меньшим пропусканием (в интервале длин волн 340—390 мкм), но зато оно более термостойко. Последнее очень существенно, если фильтр приходится устанавливать близко от мощной лампы: недостаточно термостойкие стекла в этих случаях быстро лопаются. Вообще стекла следует защищать от слишком сильного и, в особенности, неравномерного нагрева. При употреблении мощных источников желательно, чтобы стекло не соприкасалось непосредственно с металлической оправой или держателем (можно использовать, например, асбестовые прокладки), а сама оправка по возможности не имела плотного контакта с сильно нагреваемым кожухом лампы.

В тех случаях, когда для возбуждения люминесценции можно использовать коротковолновый край видимой области, пользуются стеклами ФС. Как будет показано ниже, при применении ламп накаливания замена стекла УФС стеклом ФС дает существенный выигрыш в интенсивности возбуждающего излучения.

Если возбуждающее излучение содержит видимый свет или используют для измерений приемник, чувствительный к излучению источника (например, фотоэлемент или фотоэлектронный умножитель), то между люминесцирующим объектом и приемником излучения (т. е. глазом или фотоэлементом) нужно устанавливать еще один фильтр. Назначение этого второго фильтра — не пропускать то отраженное или пропущенное объектом излучение источника, к которому чувствителен данный приемник излу-

*) Это стекло известно под названием стекла Вуда.

чения. При этом этот фильтр должен, разумеется, достаточно хорошо пропускать излучение люминесценции. Такие фильтры, из которых первый, устанавливаемый между источником и объектом, выделяет нужную для возбуждения область спектра, а второй, помещаемый между объектом и приемником люминесценции, не пропускает свет, пропущенный первым светофильтром, называют скрещенными*).

Второй фильтр должен возможно лучше пропускать излучение люминесценции и надежно срезать рассеянное образцом более коротковолновое излучение. Желательно поэтому, чтобы кривая его пропускания не только имела максимальное значение в области люминесценции, но, кроме того, возможно более резко спадала в нужном месте спектра, имела, как

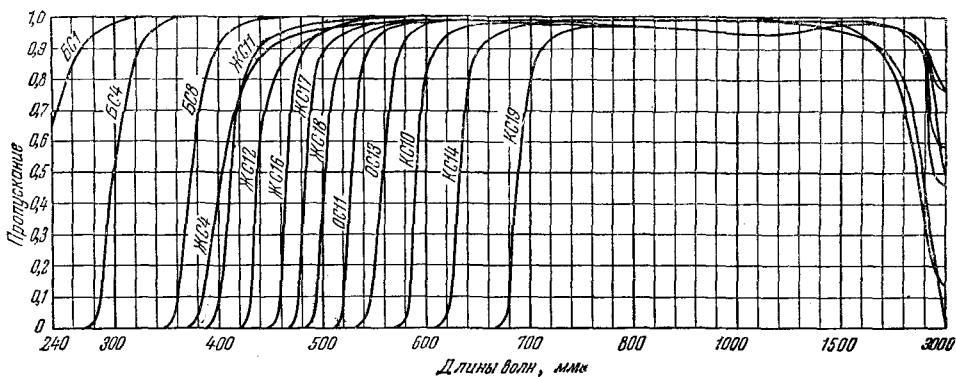


Рис. 27. Кривые пропускания некоторых белых, желтых, оранжевых и красных стекол (толщина 2 мм).

иногда говорят, «крутой фронт» с коротковолновой стороны. Такими свойствами обладает большинство стекол марок БС, ЖС, ОС, КС (белые, желтые, оранжевые, красные). Кривые пропускания некоторых из этих стекол даны на рис. 27 (также без учета потерь на отражение).

Для надежного срезания ультрафиолетовой области спектра наиболее подходящими являются фильтры из стекол ЖС. Так же надежно срезает рассеянное ультрафиолетовое излучение, практически не ослабляя при этом видимого, жидкостной фильтр из насыщенного раствора нитрита натрия в воде (рис. 28). Он не обладает собственной люминесценцией под действием ультрафиолетового излучения и, будучи помещен в кювете со стенками из кристаллического кварца (который, в отличие от ряда стекол и плавленого кварца, также не люминесцирует под действием ультрафиолетового излучения), может быть применен для измерений весьма слабого свечения.

Если в видимой области требуется срезать ту или иную часть спектра с коротковолновой стороны, то из фильтров указанных марок выбирают такой, у которого граница пропускания с коротковолновой стороны лежит при большей длине волны.

Полезно иметь в виду, что длинноволновая граница полосы пропускания, в противоположность коротковолновой, бывает обычно сравнительно пологой.

*) При наблюдении слабого свечения следует иметь в виду, что некоторые светофильтры обладают собственной люминесценцией.

Иногда бывает желательно задержать инфракрасное излучение источника, пропустив, по возможности, коротковолновое видимое и длинноволновое ультрафиолетовое. В таких случаях прибегают к теплозащитным

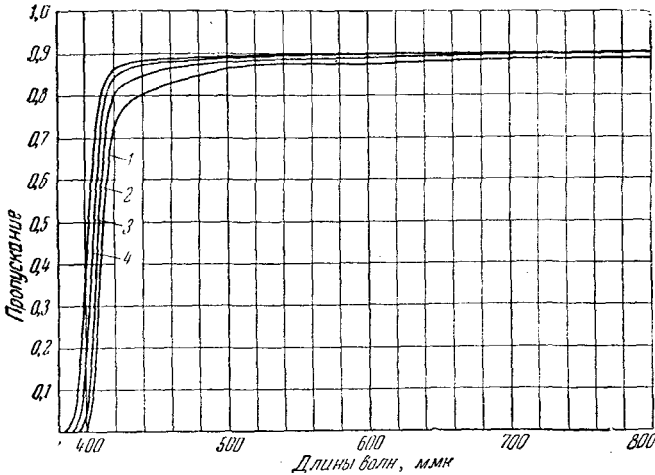


Рис. 28. Спектры пропускания кварцевой кюветы с водным раствором пикрата натрия; толщина слоя раствора — 4 мм; 1 — насыщенный раствор; 2, 3, 4 — концентрации соответственно равны $1/2$, $1/4$ и $1/8$ насыщенной.

стеклам СЗС14, СЗС5, СЗС16 (сине-зеленые) — рис. 29. Для этой цели употребляют также некоторые жидкостные фильтры (дистиллированная вода, раствор медного купороса или хлорной меди — рис. 30).

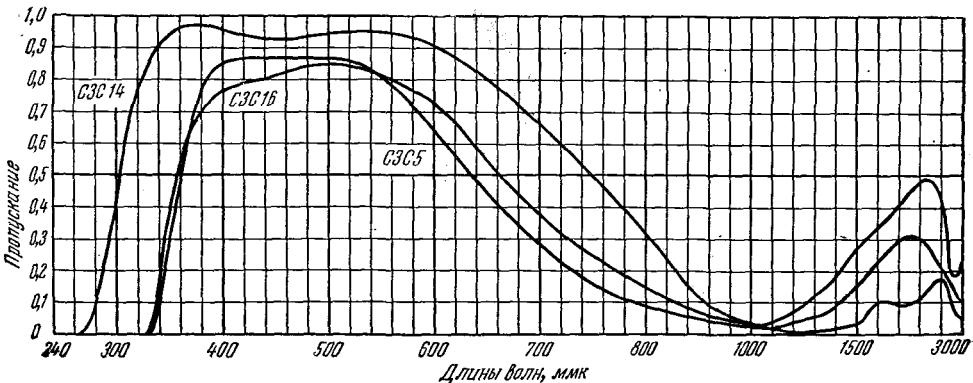


Рис. 29. Кривые пропускания теплозащитных стекол (2 мм).

Следует, наконец, упомянуть о так называемых нейтральных светофильтрах (стекла НС), употребляемых в тех случаях, когда необходимо ослабить свет в некоторое число раз, без существенных изменений его спектрального состава *).

*) Совершенно нейтральные светофильтры получить не удастся. Стекла НС обеспечивают более или менее удовлетворительную нейтральность (одинаковое пропускание) в пределах видимой области спектра.

Если необходимо получить узкие области пропускания, то комбинируют (складывают вместе) два или более светофильтров. В видимой области, используя имеющиеся марки цветных стекол, можно получить много вариантов. Для ультрафиолетовой области выбор меньше и приходится иногда прибегать к жидкостным фильтрам, т. е. к растворам различных веществ в кварцевых кюветах. В литературе описан ряд рецептов жидкостных фильтров [1].

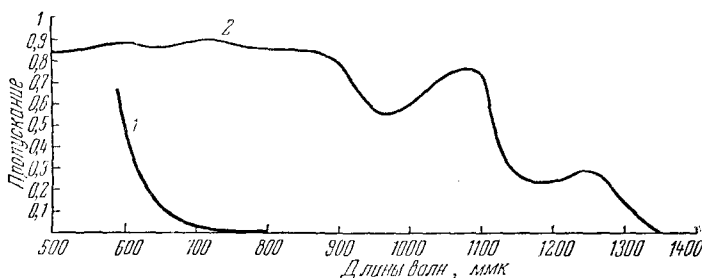


Рис. 30. Кривые пропускания:

-- 2,5% водный раствор хлорной меди (CuCl_2), толщина слоя 2 см; 2 — вода, толщина слоя 1 см (из книги Д. Стронга, Практика современной физической лаборатории, Гостехиздат, 1948, стр. 265).

В настоящее время оптическая промышленность выпускает специальный набор узкополосных светофильтров для выделения наиболее сильных линий ртутного спектра: 313, 365, 405, 436, 546 и 578 мкм.

За последние годы широкое распространение получили интерференционные светофильтры, выделяющие весьма узкие полосы спектра. Однако они изготавливаются только для видимой и ближней инфракрасной областей спектра. Для ультрафиолетовой же области такие фильтры пока не выпускаются.

2. Лампы накаливания

Рассмотрение применяемых при люминесцентном анализе источников излучения естественно начать с ламп накаливания [2—4].

Их существует много сотен типов с диапазоном мощностей от десятых долей ватта до многих киловатт. Необходимые напряжения лежат в пределах от 1 в до сетевых напряжений переменного и постоянного тока (220, 127, 110 и 135 в).

К сожалению, применение ламп накаливания для возбуждения люминесценции существенно ограничивается спектральным составом их излучения. Источником излучения в лампах накаливания служит раскаленная вольфрамовая нить или спираль из этой нити*). Спектр излучения раскаленного вольфрама очень близок к спектру, излучаемому абсолютно черным телом (полным излучателем) при температуре, близкой к температуре нити или спирали данной лампы. Поэтому спектральный состав излучения ламп накаливания, а следовательно, и цветность их излучения характеризуются обычно так называемой цветовой температурой. Цветовая температура лампы накаливания — это та температура абсолютно черного тела, при которой его спектр практически совпадает со спектром

*) В некоторых специальных лампах — тонкая вольфрамовая лента.

лампы. Цветовая температура ламп накаливания немного выше истинной температуры тела накала (т. е. вольфрама).

Цветовые температуры вакуумных ламп лежат в пределах 2200—2500° К, газополных ламп (т. е. наполненных инертными газами) — 2700—3200° К.

На рис. 31 показаны кривые относительного распределения энергии в спектре ламп накаливания с цветовыми температурами 2300 и 2800° К.

Из этих кривых видно, что основная доля энергии приходится на инфракрасную область спектра, немного на видимую и совсем мало — на ультрафиолетовую.

С повышением цветовой температуры растет как общее излучение лампы, так и доля коротковолновой части спектра в общем излучении. Поэтому, если хотят использовать ультрафиолетовое излучение, то выбирают лампу с возможно более высокой цветовой температурой. Это относится, хотя и в меньшей степени, также к потоку, излучаемому в видимой области (с повышением цветовой температуры растет световая отдача).

Из сказанного следует, что лампы накаливания, как источник ультрафиолетового излучения, весьма неэкономичны. К тому же стекло, из которого изготавливаются колбы ламп, поглощает заметную долю длинноволнового ультрафиолетового света и полностью срезает коротковолновый. Таким образом, несмотря на простоту и удобства в эксплуатации, лампы накаливания только тогда находят применение для возбуждения люминесценции, когда можно довольствоваться длинноволновым ультрафиолетовым светом (с фильтрами УФС3 или УФС4) или коротковолновым видимым (например, с фильтром ФС1). Для возбуждения инфракрасной люминесценции, спектр возбуждения которой лежит в видимой области, лампы накаливания очень удобны [5].

Расчет показывает, что даже у лампы с цветовой температурой 2800° К светофильтр УФС3 пропускает всего 0,055% от общего излучения лампы, а светофильтр ФС1 — 0,22%.

Если наблюдение ведется визуально, то при использовании фильтра ФС1 между глазом и объектом приходится ставить светофильтр для поглощения рассеянного объектом видимого излучения самого источника (стекла ЖС16 или ЖС17). Однако это выгодно только в том случае, если люминесцентное излучение лежит в относительно длинноволновой области, хорошо пропускаемой такими фильтрами. В противном случае может оказаться целесообразным все-таки применять фильтр УФС, чтобы возбуждать люминесценцию более коротковолновым светом без «скрещенного» светофильтра.

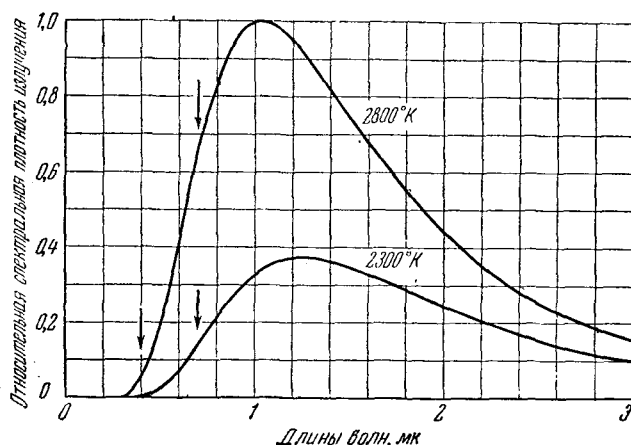


Рис. 31. Спектры излучения ламп накаливания (абсолютно черное тело при температурах 2300 и 2800° К); стрелками отмечены границы видимой области; максимум спектральной плотности излучения при температуре 2800° К условно принят за 1.

Аналогичные соображения относятся, разумеется, и к другим приемникам люминесцентного излучения, например фотоэлементам. Более того, в большинстве случаев фотоэлектрические приемники чувствительны не только к видимой, но и к близкой (длинноволновой) ультрафиолетовой области. Поэтому, если на них может попасть рассеянное образцом ультрафиолетовое излучение, их надо защищать соответствующим фильтром, например ЖС4.

Вообще, если лампа накаливания используется как источник ультрафиолетового или коротковолнового видимого излучения, то следует выбирать лампы с возможно более высокой световой отдачей (в каталогах светоотдача указывается в люменах на ватт) и, следовательно, большей цветовой температурой. При этом надо помнить, что особенно высокая световая отдача достигается путем снижения срока службы ламп и поэтому при выборе ламп в каталогах следует учитывать и графу «срок службы».

3. Газоразрядные источники

а) *Электрический разряд в газах.* Более эффективные источники возбуждения люминесценции, чем лампы накаливания, можно найти среди ламп, в которых используется излучение электрического разряда в газах [1, 3].

В нормальном состоянии газы не проводят электрический ток, поскольку их атомы или молекулы электрически нейтральны. Если к двум электродам, между которыми находится какой-либо газ, подвести не слишком большое напряжение, тока в этой цепи не будет, так как отсутствуют носители тока — заряженные частицы.

Правда, обычно внешние воздействия (космические лучи, радиоактивные излучения), ионизуя нейтральные атомы, приводят к появлению в газе электронов и положительно заряженных ионов. Однако количество таких носителей тока так мало, что обуславливаемый ими ток трудно обнаружить.

Если постепенно увеличивать напряжение между электродами, то по достижении напряжения зажигания разряда проводимость газа резко, практически мгновенно, возрастает. Через газ начинает проходить сравнительно большой ток, величина которого в основном определяется сопротивлением электрической цепи, в которой находятся электроды с газовым промежутком между ними. Это явление сопровождается излучением света. Возникновение разряда объясняется тем, что при напряжении зажигания отдельные случайно образовавшиеся в газе электроны разгоняются электрическим полем до таких энергий, что они сами начинают ионизовать газ при столкновениях с нейтральными частицами. Образующиеся при этом электроны в свою очередь создают новые носители тока, и процесс нарастает лавинообразно. Для поддержания возникшего разряда достаточно уже меньшего напряжения, называемого напряжением горения.

Газоразрядный источник света представляет собой стеклянную или кварцевую трубку или сферу, наполненную газом или паром металла. В трубчатую или сферическую колбу лампы введены (впаяны) два металлических электрода: анод и катод. У газоразрядных ламп, предназначенных для работы на переменном токе, каждый электрод попеременно служит анодом и катодом. Электроны направляются к электроду, являющемуся в данный момент анодом, положительные ионы — к катоду.

Так как масса электронов значительно меньше массы положительных ионов, а длина свободного пробега у них больше, то они разгоняются электрическим полем до больших скоростей и играют основную роль в ионизации газа. Для поддержания разряда необходимо, чтобы имелось достаточное количество первичных электронов, источником которых служит катод лампы. В зависимости от способа, которым получают эти электроны, различают две формы газового разряда.

При тлеющем разряде значительная часть общего напряжения, подводенного к электродам, приходится на малый промежуток, непосредственно примыкающий к катоду (так называемая область катодного падения потенциала). Положительные ионы, направляющиеся к катоду, приобретают в этой области энергию, достаточную, чтобы выбить из катода необходимое количество первичных электронов.

При дуговом разряде большое количество электронов получается за счет высокой температуры катода независимо от ионной бомбардировки, и катодное падение в этом случае мало *). Нагревается катод до высокой температуры или в процессе разряда, или током от отдельной цепи накала. Потери энергии на воспроизводство первичных электронов при дуговом разряде меньше, чем при тлеющем, и дуговые лампы, как правило, являются более эффективным (экономичным) источником излучения.

После зажигания газоразрядной лампы происходит лавинообразное нарастание числа носителей тока и соответственно неограниченное возрастание тока, что может привести к разрушению лампы или какого-нибудь другого элемента цепи (например, к перегоранию предохранителей). Поэтому необходимо последовательно с лампой включить в цепь сопротивление. Тогда возможный рост тока в цепи вызовет соответствующее увеличение падения напряжения на сопротивлении. Напряжение и соответственно энергия, приходящиеся на долю разряда, станут меньше; в результате ток разряда уменьшится до первоначального значения. Такое сопротивление называется балластным; его величина специально подбирается для каждого типа газоразрядных ламп. Для ламп, работающих на переменном токе, в качестве балласта обычно используют дроссель (провод, намотанный на железный сердечник); на переменном токе он, как и сопротивление, ограничивает величину тока, но приводит к значительно меньшим потерям энергии и облегчает зажигание.

Необходимо помнить, что характеристики балласта всегда рассчитываются на определенный тип ламп, и при неподходящем балласте лампа либо не загорится, либо будет работать в неправильном режиме, или перегорит.

Излучение разряда обуславливается следующими процессами. Электроны, ионы и нейтральные атомы в разрядной трубке находятся в непрерывном хаотическом движении, энергия которого поддерживается подводимым извне электрическим током. При столкновениях между частицами с малыми энергиями происходит только упругие соударения. При больших энергиях сталкивающихся частиц происходит, как указывалось, ионизация атомов — отрыв электронов. Наконец, при промежуточных значениях энергии при столкновениях частицы переходят в возбужденное состояние. Время пребывания в возбужденном состоянии мало — порядка 10^{-8} сек. Возвращаясь в нормальное состояние, атом излучает квант света с соответствующей длиной волны.

*) Известны формы дугового разряда с малым катодным падением при холодном катоде (ртутный катод).

Система возбужденных уровней обуславливается структурой электронной оболочки атома. Поэтому каждый газ излучает в разряде свои определенные, свойственные только данному газу длины волн. Из сказанного понятно также, почему при газовом разряде излучение в большинстве случаев имеет линейчатый спектр (ср. гл. I).

От режима разряда зависит соотношение энергий, приходящихся на излучение различных длин волн, соответствующих переходам с различных возбужденных уровней атомов данного газа. Так, при низких давлениях газа (от тысячных до десятых долей мм рт. ст.) и сравнительно малых токах (порядка нескольких миллиампер на 1 см^2 поперечного сечения разряда) имеет место преимущественно так называемое резонансное излучение. Это излучение соответствует переходу атома из первого (нижнего) возбужденного состояния в нормальное*). При увеличении давления газа в лампе до величин, близких к атмосферному и выше, и, особенно, при увеличении силы тока, протекающего через лампу, в излучении начинают преобладать уже не резонансные, а другие спектральные линии, свойственные данному газу и соответствующие переходам между более высокими уровнями.

Спектральные линии, излучаемые газом, и при низких давлениях, строго говоря, не монохроматичны: им соответствует не одна длина волны, а некоторый чрезвычайно узкий интервал длин волн; при повышении давления этот интервал сильно увеличивается, происходит, как говорят, расширение спектральных линий.

Кроме того, наряду с линиями появляется все более заметный сплошной спектр, так называемый «фон». При очень больших давлениях (порядка десятков атмосфер) спектр становится сплошным с отдельными максимумами в тех местах, где при низких давлениях располагались линии.

Ниже будет рассмотрен ряд типов газоразрядных ламп, используемых в люминесцентном анализе, а также основные схемы их включения (обычно все данные, необходимые для включения газоразрядных ламп, указываются в прилагаемых паспортах).

Обязательно следует иметь в виду, что ультрафиолетовое излучение описываемых ниже ламп вызывает ожоги кожи и особенно глаз. Горящие лампы должны находиться в кожухе, защищающем оператора от ультрафиолетового излучения. Нельзя смотреть на работающие лампы без очков из простого стекла, непрозрачного для ультрафиолета. При работе с особенно яркими лампами (ДРШ, ДКсШ, СВД и, в меньшей мере, ПРК) следует пользоваться очками из темного стекла.

б) *Ртутные лампы.* Из числа газоразрядных ламп особенно большое распространение получили р т у т н ы е л а м п ы. При разряде в парах ртути излучается много линий как в ультрафиолетовой, так и в видимой областях спектра; ртутные лампы являются весьма экономичными источниками этих излучений.

Для объектов, возбуждаемых коротковолновым ультрафиолетовым светом, незаменимым источником является ртутная лампа низкого давления, выполненная в колбе из плавленого кварца или хорошего увиолевого стекла. Она весьма экономично трансформирует электрическую энергию в энергию излучения (резонансная линия ртути с длиной волны 2537 \AA). Дополнительным достоинством этого источника является то, что излуче-

*) Резонансным оно называется потому, что при возбуждении атомов газа этим излучением, возвращаясь в нормальное состояние, атомы излучают ту же самую длину волны.

ние его в видимой области спектра мало по сравнению с линией 2537 Å. Благодаря этому наблюдение сравнительно ярко люминесцирующих объектов можно вести без фильтра между лампой и объектом. Это особенно важно потому, что выделение линии 2537 Å с помощью УФС1 связано с большими потерями энергии, причем из-за нестабильности стекла УФС1 его поглощение со временем увеличивается.

Промышленностью эти лампы выпускаются в виде так называемых бактерицидных ламп (излучение линии 2537Å обладает бактерицидным действием). Они выполнены в трубках из увиолевого стекла, пропускающего примерно половину излучаемой разрядом энергии с длиной волны 2537Å (лампы в кварцевой колбе, к сожалению, не выпускаются). По своим размерам, конструктивному оформлению и электрическим характеристикам эти лампы аналогичны люминесцентным лампам такой же мощности, применяемым для общего освещения.

Таблица 3

Распределение энергии в спектре ламп БУВ-15 и ПРК-2
(по данным автора)

Длина волны, Å	БУВ-15		ПРК-2	
	% от наиболее мощной линии	% от подводимой электрической мощности	% от наиболее мощной линии	% от подводимой электрической мощности
5770/90	0,85	0,13	68	2,5
5461	4,2	0,66	65	2,4
4916	0,03	0,005	0,1	0,004
4358	7,0	1,1	64	2,4
4078	0,14	0,02	5,3	0,20
4047	2,7	0,41	35	1,3
3650/63	2,0	0,31	100	3,7
3341	0,14	0,02	7,9	0,29
3126/32	2,5	0,38	60	2,21
3022/26	0,30	0,05	30	1,1
2967	0,38	0,06	14	0,52
2894	0,13	0,02	4,8	0,18
2804	0,06	0,009	11	0,40
2753/60	0,05	0,008	3,2	0,12
2699	0,01	0,002	4,6	0,17
2652	0,21	0,03	23	0,83
2537	100	15,4	30	1,1
2483	0,06	0,009	8,3	0,31
2399	—	—	3,5	0,13
2378	—	—	2,9	0,11
2358	—	—	3,4	0,12
2323	—	—	8,0	0,29
2302	—	—	4,6	0,17
Всего:		18,6		20,5

В табл. 3 указаны приблизительные данные по спектру, излучаемому бактерицидной лампой БУВ-15 (15 см). Из таблицы видно, что примерно 15% подводимой мощности переходит в излучение, используемое для возбуждения люминесценции.

На рис. 32 представлена простейшая схема включения ламп такого типа. Лампы включаются в сеть переменного тока. В простейшем случае

лампа БУВ-15 включается в сеть 127 в с соответствующим балластным дросселем, а лампа БУВ-30 — в сеть 220 в, также с дросселем. Кнопка *К* служит для зажигания лампы. При нажатии кнопки *К* ток проходит через дроссель и последовательно через оба электрода, нагревая их. После прогрева электродов, через 1—2 сек, кнопка размыкается, и лампа с прогретыми электродами зажигается возникающим при размыкании импульсом (всплеском) напряжения. Эта кнопка может быть заменена стартером на соответствующее сетевое напряжение (СК-127 или СК-220), который выполняет операцию зажигания ламп автоматически.

При необходимости для рассматриваемых ламп, как и для многих других (ПРК, ДРШ и т. д.), могут использоваться иные схемы включения, рассчитанные на другое напряжение, в частности на постоянное.

Ртутные лампы низкого давления можно использовать и для получения длинноволнового ультрафиолетового излучения; для этого на внутреннюю поверхность трубочатой колбы лампы наносится тонкий слой специального люминофора (кристаллофосфора).

Поглощая резонансное излучение паров ртути, этот слой дает более длинноволновое ультрафиолетовое излучение. Такая люминесцентная лампа разработана В. П. Даниловым, Б. И. Вайнберг и Ф. М. Пекерман [6]. Размеры, электрические характеристики и схема включения этой 15-ваттной лампы такие же, как у бактерицидной лампы БУВ-15. Внутренняя поверхность колбы этой лампы покрыта люминофором, излучающим в области 300—400 мкм с максимумом при длине волны 350 мкм. Колба выполнена из стекла УФС3, так что при использовании этой лампы нет необходимости в светофильтре. Три таких лампы дают такое же излучение, как и ПРК-4 мощностью 220 вт с фильтром УФС4, потребляя при этом в пять раз меньше электрической энергии и выделяя значительно меньше тепла.

Вместо этой лампы (которая в настоящее время промышленностью не выпускается) можно применить любые другие люминесцентные лампы с люминофором, излучающим в ультрафиолетовой области, причем между лампой и объектом необходимо установить светофильтр (УФС2 или УФС3).

В некоторых случаях могут быть использованы так называемые эритемные люминесцентные лампы, имеющие такие же габариты и электрические характеристики. В них используется люминофор, дающий излучение в области 280—360 мкм с максимумом при 305 мкм [7]. Колба лампы выполняется из прозрачного увиолевого стекла, поэтому при работе следует использовать фильтр УФС2 (или УФС3).

К люминесцентным источникам длинноволнового ультрафиолетового излучения, в которых применяется ртутный разряд низкого давления, следует отнести также лампу УФО-4А, выпускаемую для освещения люминесцентных шкал приборов. Это маленькая лампа, предназначенная для работы в цепях постоянного тока с напряжением 26—28 в. Ее общий вид и схема включения представлены на рис. 33. При включении лампы биметаллическая пластинка *В* замкнута и катод *К* нагревается. После прогрева биметаллическая пластинка разрывает контакт с анодом и возникает разряд в парах ртути. Внутренняя поверхность колбы покрыта люминофором,

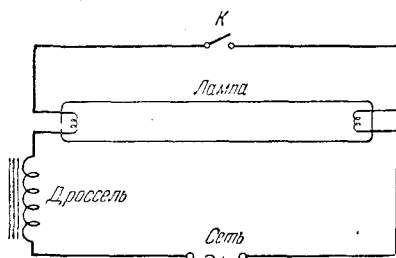


Рис. 32. Простейшая схема включения бактерицидных и люминесцентных ламп в сеть переменного тока.

излучающим в области 315—390 мкм (максимум — 350 мкм). Лампу следует применять с фильтром УФСЗ.

Лампа УФО-4А очень удобна для переносных установок, где желательно иметь маломощный низковольтный источник, работающий на постоянном токе, но нет надобности в интенсивном излучении.

Чаще всего в качестве источника длинноволнового ультрафиолетового излучения — самого употребительного вида возбуждения при люминесцентном анализе — применяются лампы ПРК и кварцевые ртутные лампы высокого давления (порядка 1 атмосферы *).

Лампы выпускаются следующих типов: ПРК-4 — рассчитаны на напряжение сети переменного тока 127 в и мощность 220 вт; ПРК-2 — на 220 в и 375 вт; ПРК-5 — на 220 в и 240 вт; ПРК-7 — на 220 в и 1000 вт. Наиболее распространенными и, пожалуй, наиболее удобными для целей люминесцентного анализа являются типы ПРК-4 и ПРК-2. Эксплуатация ламп ПРК-4 и ПРК-2 производится обычно с нормализованными приборами включения, изготовляемыми заводами электромедицинского оборудования. Эти приборы позволяют включать данный тип лампы на любое сетевое напряжение. Принципиальная схема включения этих ламп в сеть переменного тока дана на рис. 34, а характеристики балластных дросселей приведены в табл. 4 **). При необходимости могут быть построены пусковые приборы для работы ламп на постоянном токе.

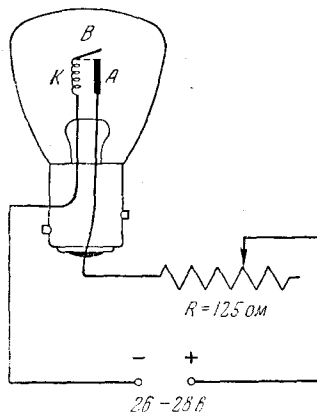


Рис. 33. Лампа УФО-4А и схема ее включения; А — анод, К — катод, В — биметаллическая пластинка.

Таблица 4

Электрические параметры балластных дросселей к лампам ПРК, ДРШ

Тип лампы	Рабочий режим		Пусковой режим	
	напряжение на дросселе, в	сила тока, а	напряжение на дросселе, в	сила тока, а
ПРК-2	170	3,75	220	5—6
ПРК-4	87	3,75	120	4,5—5
ПРК-5	163	2,3	220	3,1—4,2
ПРК-7	151	8,05	220	11,7—14
ДРШ-1000	190	12,0±0,4	220	15—17
ДРШ-500	190	7,5	220	9—11
ДРШ-250	93	4,0—4,1	127	6,5—8,0

Спектр излучения ламп ПРК-2 (спектр других типов отличается незначительно) представлен в табл. 3. Для возбуждения люминесценции лампы ПРК применяются со светофильтрами УФСЗ или УФС4, выделяющими излучение группы линий 3650/63 Å. В случае, если светофильтр приходится располагать близко к лампе и он нагревается, следует предпочесть

*) Эти лампы применяются в медицине для облучения («кварц»).

**) Индукцию в железном сердечнике дросселя и воздушный зазор подбирают так, чтобы при включении дросселя на оба значения напряжения переменного тока, указанные в табл. 4, получить соответствующие этим напряжениям токи.

светофильтр УФС4. Наблюдение люминесценции, возбуждаемой лампами ПРК, практически невозможно без использования светофильтра, так как наряду с ультрафиолетовым излучением эти лампы дают много видимого света.

Там, где нужно получить высокие значения облученности на маленьких участках поверхности объекта, применяются шаровые ртутные лампы сверхвысокого давления *) в сочетании с соответствующими конденсаторами (или осветителями). Эти лампы выпускаются

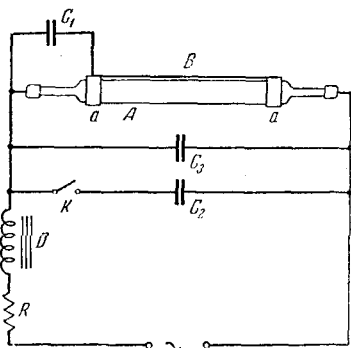


Рис. 34. Лампа ПРК и схема ее включения в сеть переменного тока;

А — лампа; В — конденсаторная полоса (прикреплена снаружи к металлическим держателям лампы а); С₁ — конденсатор емкостью 0,0003 — 0,0005 мкф; С₂ — конденсатор емкостью 2—3 мкф; С₃ — конденсатор, рассчитанный на испытательное напряжение не менее 1500 в (эффективное), емкостью 0,05 мкф для ПРК-4 и 0,005—0,007 мкф для остальных типов; К — кнопка (нажимается и отпускается при зажигании лампы после включения ее в сеть); D — дроссель; R — сопротивление 6 ом для ПРК-4 и 11 ом для остальных типов.

Они являются наиболее сильным средством для зажигания ламп и употребляются в тех случаях, когда схема включения не обеспечивает получения достаточного импульса для зажигания (например, при включении люминесцентных или бактерицидных ламп, а также ПРК в сеть постоянного тока). В этих случаях высокочастотный провод прибора следует поднести к одному из электродов лампы, а иногда и просто к колбе. Кроме того, эти генераторы могут служить источниками энергии для получения высокочастотного, а иногда и искрового разряда.

Спектр лампы ДРШ-1000 представлен на рис. 36. Как и у ламп ПРК, основная часть энергии сосредоточена в видимой и близкой ультрафиолетовой области. Однако здесь на коротковолновый участок ультрафиолето-

*) В горячем состоянии давление в лампе достигает нескольких десятков атмосфер, поэтому лампа должна работать обязательно в закрытом кожухе, так как возможен взрыв.

**) ДРШ означает: дуговая ртутная шаровая. Раньше этот тип ламп назывался СВДШ.

***) Наиболее яркая из этих ламп ДРШ-100 дает в видимой области яркость примерно в полтора раза выше яркости Солнца и в 20—40 раз выше яркости лампы накаливания.

на разные значения мощности: 1000 вт, 500 вт, 250 вт, 100 вт — ДРШ-1000, ДРШ-500, ДРШ-250, ДРШ-100 (последняя — только для постоянного тока) **). Размеры светящегося тела у них малы, так как разряд не заполняет весь объем сферической кварцевой колбы лампы (рис. 35). Это — маленькая, очень яркая дуга***) между двумя введенными через острижки колбы электродами, длина которой составляет от 8 мм (ДРШ-1000) до нескольких десятых долей мм (ДРШ-100). Третий (боковой) электрод служит для зажигания лампы. Для зажигания необходимо подвести к этому электроду провод от источника высокого (выше 10 000 в) напряжения высокой частоты. После зажигания высокочастотное напряжение выключается. Генераторами такого напряжения служат приборы типа катушки Тесла и им подобные. В продаже они имеются под названием искровых теченскателей. Иногда для этих же целей используют автомобильную обмотку.

Следует иметь в виду, что генераторы такого рода (безопасные благодаря малой мощности и высокой частоте) крайне полезны при работе с газоразрядными лампами.

вой области приходится еще меньшая доля энергии и, кроме того, в излучении ламп сверхвысокого давления значительная доля приходится на сплошной спектр (фон), над которым возвышаются максимумы сильно расширенных линий. Как и ПРК, эти лампы применяются с фильтрами УФСЗ или УФС4.

Необходимо упомянуть еще лампу СВД-120А в трубчатой кварцевой колбе. Ее яркость ниже, чем у ламп ДРШ, но у нее на коротковолновую ультрафиолетовую область приходится больше энергии (лампа является как бы промежуточной между ПРК и ДРШ).

Заканчивая обзор ртутных ламп, следует отметить, что иногда некоторые типы (ПРК, ДРШ) применяются в режимах, отличающихся от номинального, указанного в паспортах. Иногда схему включения подбирают таким образом, чтобы получить в лампе тлеющий разряд малой мощности. Спектр излучения в этом случае близок к спектру лампы низкого давления, например, бактерицидной, т. е. преобладает энергия в коротковолновой области. Такая замена может оказаться выгодной, например, благодаря

тому, что размеры этих ламп меньше, чем у БУВ-15. С другой стороны, такой же примерно спектр можно получить, возбуждая в этих лампах высокочастотный разряд. Это достигается подключением к электродам лампы напряжения от одного из упоминавшихся выше источников высоковольтного высокочастотного напряжения. Такой вариант может оказаться выгодным для установок полевого типа, так как, например, автомобильная bobина может питаться от 6-вольтового аккумулятора. (Ср. «ЛЮМ-2», стр. 115.)

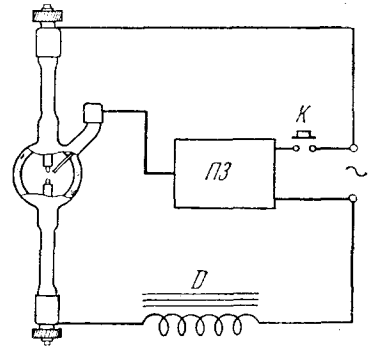


Рис. 35. Общий вид и схема включения лампы ДРШ в сеть переменного тока.

Центральная часть колбы дана в разрезе. *D* — дроссель; *ПЗ* — прибор зажигания (генератор, создающий искру длиной 15—20 мм); *K* — кнопка, включающая прибор зажигания.

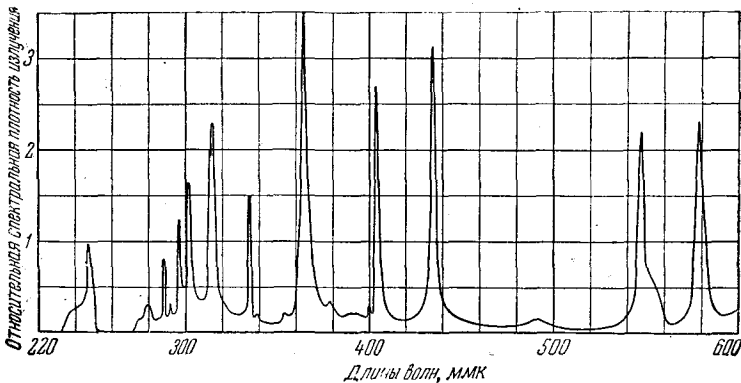


Рис. 36. Спектр излучения лампы ДРШ-1000 (по данным Д. А. Шкловера).

в) *Водородные и другие газоразрядные лампы.* В практике люминесцентного анализа могут использоваться и другие, не ртутные газоразрядные источники излучения. Для ряда спектрофотометрических задач бывает нужен сплошной спектр в ультрафиолетовой области. Наилучшим источ-

ником, хотя относительно небольшой интенсивности, являются в этом случае водородные лампы; они имеют сплошной спектр, охватывающий область от 360 мкм до границы пропускания материала, из которого сделана колба или окно в ней *). В настоящее время промышленностью освоено 2 типа водородных ламп, предназначенных для спектрофотометрических целей: а) лампа ДВС-25 (мощностью 25 вт) имеет маленькое круглое светящееся тело (диаметром 2,5 мм) и увиолевое окно, пропускающее излучение разряда в водороде до длин волн порядка 200 мкм; б) 40-ваттная лампа ДВС-40 имеет кварцевое окно с пропусканием не менее чем до 185 мкм и светящееся тело в виде полоски $0,6 \times 7$ мм², что удобно для отображения его на щель спектрального прибора. Эти лампы предназначены для работы на постоянном токе, получаемом от специальных электронных стабилизаторов, выпускаемых оптической промышленностью, но могут быть подключены к любому источнику питания с напряжением постоянного тока порядка 300 в **). При этом необходимо соответствующее балластное сопротивление и отдельная цепь накала катода. Необходимые данные приведены в паспортах, которыми снабжены лампы.

Сплошной спектр в ультрафиолетовой области дают также криптоновые и ксеноновые лампы сверхвысокого давления ***). Эти лампы, как и аналогичные ртутные, отличаются очень высокой яркостью, но интенсивность их излучения падает с уменьшением длины волны.

г) *Искровые источники*. В числе прочих источников возбуждения фотolumинесценции необходимо, наконец, назвать открытый искровой разряд в воздухе. Искра между железными электродами дает спектр, состоящий из многочисленных линий и перекрывающий всю ультрафиолетовую область вплоть до границы пропускания воздуха. Наибольшая интенсивность излучения железной искры приходится на область 250—300 мкм. Могут быть использованы также и другие материалы электродов (алюминий, цинк, вольфрам и др.), которые дают преимущественное излучение в той или иной области спектра. Источником питания искры служат обычно специальные схемы — искровые генераторы. Они выпускаются, в частности, оптической промышленностью (ИГ-2).

4. Катодное возбуждение

Явление катодolumинесценции широко используется в современной электронике в так называемых электронно-лучевых приборах (примером может служить приемная телевизионная трубка—кинескоп). Катодolumинофор находится внутри прибора в высоком вакууме и возбуждается потоком электронов, разогнанных до больших скоростей. Для целей люминесцентного анализа такие приборы служить не могут, так как их колбы после откачки запаиваются на заводе и смена образца невозможна. Не всегда пригодны для этого и существующие конструкции разборных электронно-лучевых трубок, так как они громоздки и сложны в обращении.

Для аналитических задач при применении катодolumинесценции наиболее целесообразно использование быстрых электронов, получаемых в высокочастотном разряде при низких давлениях газа (порядка

*) Сплошной спектр разряда в водороде простирается и в более длинноволновую область, но там на него накладываются многочисленные линии.

**) Можно использовать и меньшее напряжение (100—150 в), но с прибором зажигания — высоковольтным генератором высокой частоты (см. стр. 104).

***) Эти лампы взрывоопасны даже в холодном состоянии. Вынимая лампу из футляра и устанавливая в предназначенный для нее кожух, следует иметь на лице маску (например, из плексигласа).

10^{-2} мм рт. ст. и менее). Обычно таким газом является небольшое количество воздуха, остающееся после откачки.

Г. Ф. Комовским был предложен в свое время весьма простой прибор, пригодный в полевых условиях без специального источника электроэнергии [8, 9, 10]. Ячейка Комовского (рис. 37) представляет собой небольшую (диаметром порядка 50 мм) камеру, откачиваемую ручным масляным насосом (конструкция которого также разработана Комовским и который нашел применение в школьном физическом практикуме). Основанием ячейки служит латунный диск с отверстием, к которому припаян патрубок, ведущий через кран к насосу. На основание замазкой Менделеева наклеивается плоское резиновое кольцо (желательно из вакуумной резины). На кольцо свободно ставится полый эбонитовый цилиндр, снабженный кольцевыми выступами по нижнему краю для лучшего уплотнения при откачке. Этот край цилиндра смазывается вакуумной замазкой. К верхнему краю приклеивается алюминиевое кольцо, а к последнему — стекло, закрывающее ячейку. Исследуемые образцы кладутся на дно ячейки или на легкую металлическую подставку и закрываются цилиндром со стеклянным окном. К алюминиевому кольцу подводится высокочастотный провод от магнето*), приводимого в движение той же рукояткой, что и насос. При достаточном разрежении высокочастотный разряд создает большое число быстрых электронов, бомбардирующих образцы и вызывающих катодoluminesценцию. Мелкие объекты наблюдаются через лупу или микроскоп.

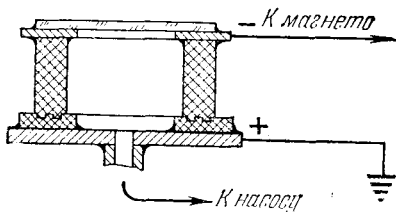


Рис. 37. Ячейка Комовского (разрез).

Аналогичный, также довольно простой прибор был предложен М. Г. Богословским [11]. Трубка Богословского откачивается форвакуумным масляным насосом, приводимым в движение электромотором.

В последние годы П. П. Соловьевым и К. В. Рожковым разработан промышленный прибор для наблюдения катодoluminesценции, основанный на том же принципе [12]. Ячейка расположена на верхней крышке ящика, в котором собран высоковольтный генератор высокой частоты. Для прибора сконструирован небольшой масляный насос, вращаемый электромотором. Насос соединяется с ячейкой флангом из вакуумной резины. Генератор и электромотор питаются от сети. Авторами предусмотрена замена плоского стекла лупой для возможности наблюдения люминесценции мелких частиц. Они рекомендуют использовать также бинокулярную лупу или длиннофокусный бинокулярный микроскоп.

Большие успехи в технике высокого вакуума, достигнутые в последнее время, а именно разработка мощных вакуумных насосов и цельнометаллических конструкций для катодного возбуждения образцов (типа электронных микроскопов) в значительной степени устранили трудности, связанные с работой высоковакуумных разборных электронно-лучевых трубок. Смена образцов в таких конструкциях, снабженных смотровыми окнами для наблюдения катодoluminesценции, производится без нарушения вакуума во всей системе через специальные металлические дверцы. Вместе с промежуточной откачкой объема, занимаемого образцами, эта операция занимает не более нескольких минут. В прибор вносится обычно

*) Источник высоковольтной искры, аналогичный автомобильной бobbине. Для этой цели также может быть применен искровой течеискатель.

венно несколько образцов (10—20), которые затем без нарушения вакуума последовательно подводятся под электронный пучок вращением несущего столика. В специальных лабораториях, занятых исследованием катодлюминесценции, такие установки вполне себя оправдали. Они позволяют оперативно просматривать большое число образцов и количественно характеризовать их по яркости, спектральному составу и инерционным свойствам свечения. Создание подобной установки под силу лаборатории, использующей люминесцентный анализ для исследования разнообразных препаратов. Более подробное описание см. в главе XI, стр. 151—152.

Б. ИЗМЕРЕНИЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ

1. Визуальные и фотоэлектрические измерения

Описанные различные устройства, применяемые для возбуждения люминесценции, позволяют проводить анализ не только качественный, но и количественный. Нужные для этого измерения интенсивности свечения осуществляются визуальным или фотоэлектрическим способами.

Измерение интенсивности люминесценции является частным случаем измерений излучения и поэтому для этой цели, вообще говоря, пригодны различные фотометры*).

Как уже указывалось (см. гл. VI), визуальная фотометрия основана на следующих принципах. Человеческий глаз не в состоянии сколь-нибудь надежно оценить, во сколько раз одна яркость больше другой, но он может с большой точностью устанавливать равенство яркостей при условии, что наблюдаемые им сравниваемые поверхности соприкасаются друг с другом вдоль некоторой линии раздела. Соответственно оптические схемы визуальных фотометров таковы, что обеспечивают выполнение этого условия, причем сами сравниваемые светящиеся объекты обычно не соприкасаются между собой.

В схеме фотометра должно быть предусмотрено устройство, позволяющее уменьшать видимую яркость более интенсивно светящегося образца до выравнивания яркостей обеих полей сравнения; способ ослабления должен быть обязательно таким, чтобы можно было определять, во сколько раз пришлось уменьшить большую яркость до выравнивания.

Наиболее употребительны три способа ослабления. В первом из них на пути лучей, идущих от более яркого образца, устанавливается так называемый оптический клин. Оптический клин представляет нейтральный светофильтр, пропускание которого меняется вдоль его длины по определенному закону. Обычно это показательная (экспоненциальная) зависимость, так как толщина клина, а следовательно, и его оптическая плотность меняются пропорционально длине. Передвигая такой клин вдоль его длины и снабдив его при этом шкалой для отсчета передвижения, ослабляют проходящий через него свет в известное число раз.

Второй способ заключается в том, что на пути светового потока устанавливается диафрагма с отверстием, величину которого можно изменять.

*) В частности, для визуальных измерений может быть использован фотометр типа Пульфриха, выпускаемый отечественной промышленностью под маркой «ФМ» (см. гл. VI, стр. 89). Прилагаемый к фотометру осветитель (лампа накаливания) может служить источником возбуждения лишь в немногих случаях с заменой стекла в окне осветителя на светофильтры (УФСЗ или ФС1). Целесообразнее пользоваться специальным ультрафиолетовым осветителем, которым завод-изготовитель комплектует прибор по специальному заказу.

Диафрагма с изменяемым отверстием должна быть установлена в таком месте оптической системы, чтобы она ограничивала поток света, освещающий поле сравнения, но не меняла размер поля. Так, если поле сравнения создается линзой, то диафрагма должна лежать в плоскости линзы (практически рядом с ней). Только в этом случае освещенность поля сравнения пропорциональна действующей площади линзы, определяемой отверстием диафрагмы. Устройство для раскрытия диафрагмы снабжается отсчетной шкалой. Такой способ ослабления применен в фотометре ФМ.

Третий способ основан на использовании поляризации света. Два сравниваемых пучка с помощью специальных призм или поляризаторов поляризуются в двух взаимно перпендикулярных направлениях. Затем оба пучка проходят через один анализатор. Если плоскость поляризации анализатора повернута на 45° относительно первых двух плоскостей, то интенсивности обоих пучков будут ослаблены в равной мере. При повороте анализатора отношение ослаблений меняется пропорционально квадрату тангенса угла поворота (см. гл. XX).

При фотоэлектрических измерениях об интенсивности люминесценции судят по величине электрического тока, который возникает в цепи фотоэлемента. Сила тока пропорциональна световому потоку, падающему на фотоэлемент, и измеряется гальванометром.

Непосредственное сравнение двух образцов здесь не обязательно, хотя оно и применяется в некоторых приборах. Градуируют установку по контрольным образцам и определяют цену деления гальванометра; в дальнейшем измерения ведут по отсчетам гальванометра без непосредственного сравнения. Следует иметь в виду, что градуировку необходимо время от времени проверять, так как чувствительность фотоэлементов иногда немного меняется.

2. Фотоэлементы и фотоэлектронные умножители

В качестве наиболее употребительных фотоэлектрических приемников излучения следует назвать фотоэлементы с запирающим слоем (главным образом селеновые), фотоэлементы с внешним фотоэффектом (вакуумные) с различными катодами и фотоэлектронные умножители.

а) *Фотоэлементы с запирающим слоем.* Селеновый фотоэлемент (рис. 38) с запирающим слоем представляет собой железную пластинку, покрытую полупроводящим слоем селена, на который, в свою очередь, нанесена тонкая, прозрачная для света пленка золота. На границе селена и золотой пленки образуется так называемый запирающий слой, т. е. слой, обладающий свойством пропускать свободные электроны только от селена к золоту. При падении света на фотоэлемент в селеновом слое освобождаются электроны. В своем хаотическом движении они частично переходят в пленку золота, а обратно вернуться не могут. Поэтому под действием света между золотом и селеном образуется разность потенциалов. Гальванометр подключается к контактам, соединенным с железной пластиной

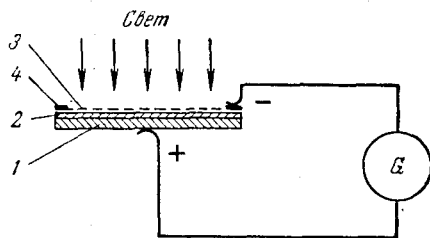


Рис. 38. Селеновый фотоэлемент (схематически);

1 — железная пластинка; 2 — слой селена; 3 — полупрозрачная пленка золота (показана условно пунктиром); 4 — контактное кольцо; G — гальванометр или микроамперметр, измеряющий фототок.

(+) и с золотой пленкой (-); с последней — через контактное металлическое кольцо, нанесенное на края пленки.

Большим преимуществом фотоэлементов с запирающим слоем является то, что под воздействием света они сами генерируют напряжение и поэтому не нуждаются в источниках питания, в то время как фотоэлементы с внеш-

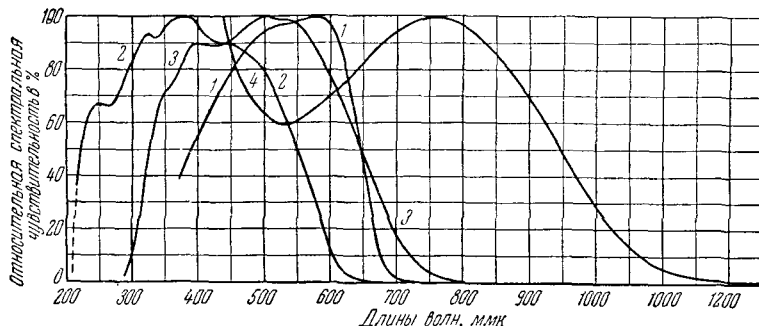


Рис. 39. Спектральные характеристики фотоэлементов (по данным автора);

1 — селенового (средняя из 8 кривых для фотоэлементов СФ-10); 2 — сурьмяно-цезиевого с увиолевым окном (средняя из 20 кривых для фотоэлементов СЦВ-6); 3 — висмута-серебряно-цезиевого с полупрозрачными катодами, работающими «на просвет» (средняя из 20 кривых для фотоэлементов ВСЦ-1); 4 — кислородно-цезиевого (средняя из 19 кривых для фотоэлементов ЦВ-6).

ним фотоэффектом (см. ниже) под действием света только приобретают способность проводить ток, для получения же тока необходим внешний источник напряжения (например, батарея). Кроме того, селеновые фотоэлементы имеют чувствительность, в несколько раз большую, чем у наиболее чувствительных вакуумных фотоэлементов.

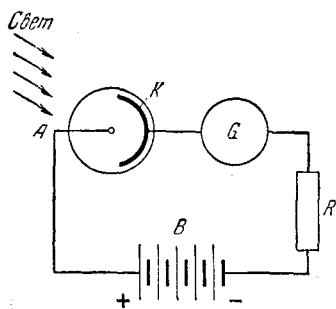


Рис. 40. Типовая схема включения вакуумного фотоэлемента;

А — анод; К — катод; В — батарея; G — гальванометр или микроамперметр; R — сопротивление, защищающее гальванометр от случайного пробоя фотоэлемента (100—200 ком).

Следует, однако, иметь в виду, что если имеющейся чувствительности недостаточно и необходимо дальнейшее усиление фототока, то в этом случае селеновые фотоэлементы не подходят, так как электронное усиление тока селеновых фотоэлементов — задача очень трудная.

На рис. 39 дана спектральная характеристика селенового фотоэлемента — зависимость его чувствительности от длины волны падающего света. Эту характеристику, как и другие приводимые на этом рисунке, следует рассматривать как типовую, так как характеристики отдельных экземпляров одного и того же вида фотоэлементов несколько различаются между собой.

б) *Фотоэлементы с внешним фотоэффектом.* Фотоэлементы с внешним фотоэффектом представляют собой колбу из прозрачного

стекла, из которой удален воздух и в которую введены два электрода — анод и катод. Катодом фотоэлемента служит нанесенная на стенку колбы или на пластинку из подходящего материала (металла, слюды) тонкая металлическая или полупроводниковая пленка, которая способна освободить электроны под действием падающего на нее излучения (явле-

ние внешнего фотоэффекта). При подведении к фотоэлементу напряжения от внешнего источника (рис. 40) эти электроны направляются к аноду, монтируемому обычно так, чтобы он не экранировал катод от падающего света. Включенный в цепь гальванометр измеряет ток. Необходимое напряжение батареи составляет обычно от нескольких десятков до 100—200 в.

Спектральная характеристика и общая чувствительность вакуумных *) фотоэлементов с внешним фотоэффектом определяются материалом катода. Наиболее подходящими для общих целей и, следовательно, наиболее употребительными оказались сурьмяно-цезиевый, висмута-серебряно-цезиевый и кислородно-цезиевый фотокатоды **). На рис. 39 даны спектральные характеристики этих катодов.

При выборе типа фотоэлемента по его спектральной характеристике следует, разумеется, стремиться к тому, чтобы он возможно лучше реагировал на излучение исследуемого объекта, но был нечувствителен к возбуждающему излучению, рассеянному образцом. Второму требованию фотоэлементы, как правило, не удовлетворяют, но, как уже указывалось, коротковолновое излучение легко отсесть с помощью соответствующего светофильтра.

Кроме чувствительности, при выборе фотоэлемента необходимо учитывать еще одно обстоятельство. И в отсутствие освещения фотоэлементы способны пропускать ток. Этот так называемый темновой ток обычно очень мал, но если работа ведется с малыми интенсивностями света, то он становится сравнимым с измеряемым током и является, таким образом, помехой при измерениях.

Из трех упомянутых типов катодов в большинстве случаев наиболее подходящим оказывается сурьмяно-цезиевый. Сурьмяно-цезиевые фотоэлементы имеют наибольшую чувствительность и наименьшие темновые токи. По этим характеристикам висмута-серебряно-цезиевые фотоэлементы мало отличаются от сурьмяно-цезиевых, но они имеют большую чувствительность в красной области спектра, и в тех случаях, когда люминесцентное излучение лежит в длинноволновой части видимого спектра, они выгоднее ***). Кислородно-цезиевые фотоэлементы в настоящее время применяются только для измерений в инфракрасной области, к которой остальные виды катодов нечувствительны. Они обладают малой общей чувствительностью и сравнительно большими темновыми токами.

в) *Фотоэлектронные умножители (ФЭУ)*. Когда приходится иметь дело с очень малыми интенсивностями излучения, применяют фотоэлектронные умножители. Принцип действия и схема включения умножителя показаны на рис. 41. Электроны, вырванные светом из фотокатода, под действием приложенного напряжения ускоренно движутся к первому из группы электродов, называемых вторичными эмиттерами (или динодами). Каждый из этих электронов, попадая на поверхность эмиттера, выбивает

*) Для получения большей чувствительности кроме вакуумных изготавливают также газополные фотоэлементы с внешним фотоэффектом. Вырванные из катода электроны вызывают разряд в газе, и ток фотоэлемента возрастает за счет этого в несколько раз. Однако зависимость тока таких фотоэлементов от количества падающего света нелинейна и для измерительных целей они не рекомендуются.

**) В настоящее время разработаны фотоэлементы с мультищелочным (многощелочным) катодом. Их спектральная характеристика близка к характеристике висмута-серебряно-цезиевого катода, а общая чувствительность значительно выше. Для специальных целей используют и другие виды катодов.

***) Во многих случаях, в которых до сих пор применялись сурьмяно-цезиевые и особенно висмута-серебряно-цезиевые фотоэлементы, они, по-видимому, будут вытеснены мультищелочными фотоэлементами, как более чувствительными.

из нее несколько электронов. Вновь образовавшиеся электроны направляются к следующему вторичному эмиттеру, где опять число их возрастает в несколько раз, и так далее. От последнего из вторичных эмиттеров электроны направляются к аноду. Таким образом в фотоэлектронном умножителе происходит усиление первоначального фототока. Число вторичных эмиттеров (число каскадов усиления) в различных типах умножителей колеблется от одного до полутора десятков, а результирующее усиление достигает многих миллионов.

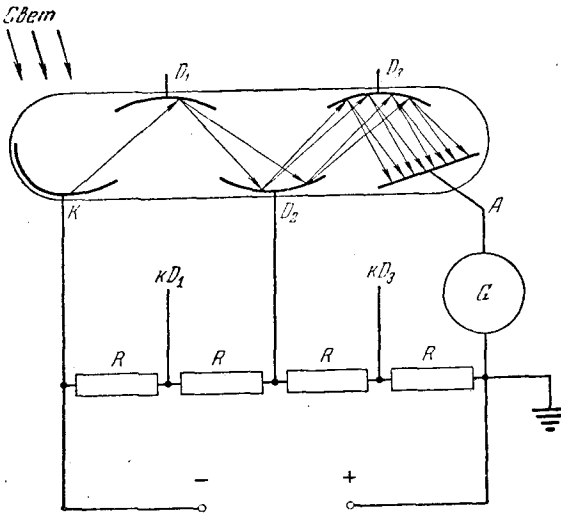


Рис. 41. Фотоэлектронный умножитель, схема его включения;

К — катод; А — анод; D_1, D_2, D_3 — вторичные эмиттеры (диоды); G — гальванометр; R — сопротивления делителя напряжения (от нескольких миллионов ом каждое в зависимости от величины анодного тока и мощности источника напряжения).

В умножителях применяются те же фотокатоды, что и в фотоэлементах и все сказанное выше о фотокатодах остается здесь в силе.

На каждый каскад умножителя следует подавать напряжение от нескольких десятков до 100—150 в. На рис. 41 показано, как осуществляется

питание умножителя от одного источника с помощью делителя напряжения. Регулируя напряжение источника, можно в широких пределах менять чувствительность умножителя. Это большое преимущество умножителей связано, однако, и с неприятностями, так как незначительные случайные колебания напряжения питания вызывают заметные изменения чувствительности. Источник питания должен быть очень стабильным (электронный стабилизатор напряжения или хорошая батарея). Вообще

На каждый каскад умножителя следует подавать напряжение от нескольких десятков до 100—150 в. На рис. 41 показано, как осуществляется

Таблица 5

Основные характеристики некоторых типов фотоэлектронных умножителей

Наименование	Тип катода	Краткая характеристика
ФЭУ-17	Сурьмяно-цезиевый	Катод на пластине
ФЭУ-18	Сурьмяно-цезиевый	Катод на пластине, окно из увиолевого стекла (для работы с ультрафиолетовым излучением)
ФЭУ-19	Сурьмяно-цезиевый	Полупрозрачный катод (работающий «на про-свет»)
ФЭУ-20	Сурьмяно-цезиевый	Малогабаритный, катод на пластине
ФЭУ-22	Кислородно-цезиевый	Катод на пластине
ФЭУ-25	Сурьмяно-цезиевый	Малогабаритный, полупрозрачный катод
ФЭУ-27	Висмута-серебряно-цезиевый	Малогабаритный, полупрозрачный катод
ФЭУ-29	Сурьмяно-цезиевый	Аналогичен ФЭУ-19, отличается повышенной чувствительностью

надо иметь в виду, что работа с умножителем много сложнее, чем с фотоэлементом, и там, где нет необходимости в особенно высокой чувствительности, следует отдавать предпочтение фотоэлементам. Основные характеристики некоторых типов умножителей даны в таблице 5.

В отличие от глаза фотоэлектрический приемник оценивает не яркость, а световой поток, поступающий от светящегося объекта. Показания приемника возрастают не только с увеличением яркости светящейся поверхности, но и с увеличением ее площади (см. гл. VI). Поэтому схему фотоэлектрического фотометра следует собирать так, чтобы либо размеры образцов были всегда одинаковыми, либо из поверхности различных образцов «выделялся» всегда одинаковый по площади участок. Второй вариант можно осуществить, например, с помощью диафрагмы такого размера и так поставленной, чтобы фотокатод «видел» через нее всегда один и тот же участок поверхности образца независимо от размеров последнего.

Для оценки интенсивности свечения применяют иногда и фотографический метод, основанный на измерении плотности почернения на негативе (см. гл. VI)

3. Спектральные измерения

В люминесцентном анализе нередко возникает необходимость знать спектр люминесценции исследуемого объекта.

На рис. 42 дана простейшая принципиальная схема спектрального прибора (спектрографа), который может быть применен для этой цели. Источник исследуемого излучения, в данном случае люминесцирующий

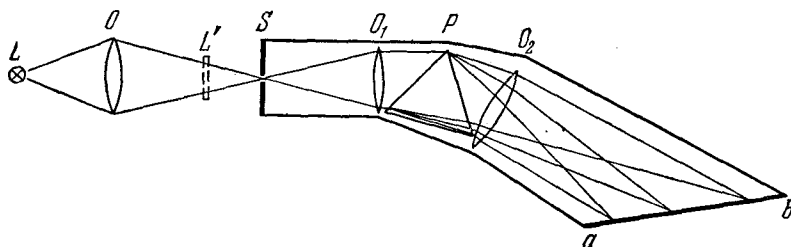


Рис. 42. Оптическая схема простейшего спектрального прибора (спектрографа).

L — источник (относительно малых размеров); O — конденсор, отображающий источник на входную щель S ; L' — протяженный источник, размеры которого обеспечивают заполнение коллиматорного объектива без конденсора и который может устанавливаться непосредственно перед входной щелью; O_1 — коллиматорный объектив; P — призма; O_2 — камерный объектив; $a-b$ — поверхность спектра (фокальная поверхность камерного объектива).

объект, непосредственно или через конденсор (в зависимости от размеров источника; см. гл. VI) освещает входную щель прибора. Расходящийся от щели пучок лучей превращается первым (коллиматорным) объективом прибора в параллельный пучок, который падает на призму. Параллельные пучки различной длины волны, вошедшие в призму под одним и тем же углом, выходят из нее под разными углами. После призмы они попадают на второй (камерный) объектив прибора, который снова собирает их и образует, таким образом, изображения входной щели. Места, в которых образуются эти изображения, зависят от того, под каким углом параллельный

пучок упал на объектив, поэтому для разных длин волн изображения входной щели оказываются в разных местах вдоль некоторой поверхности, более или менее близкой к плоскости. Эта поверхность, вдоль которой располагается образуемый таким путем спектр, обычно наклонена к оси прибора, так как фокусные расстояния объектива для разных длин волн различны (тем больше, чем больше длина волны). Если вдоль этой поверхности поместить фотографическую пластинку, то на ней получится изображение спектра. По интенсивности почернения измеряют распределение энергии в спектре (см. гл. VI). Поскольку неизвестно, в какой мере прозрачна оптика прибора для излучения различных длин волн, а главное, в какой мере чувствительна к ним используемая фотопластинка, измерения такого рода производят путем сравнения с другим источником, спектр которого известен и который служит эталоном.

Иногда достаточно визуального рассмотрения спектра. Тогда используются так называемые спектроскопы. В этих приборах спектр, получающийся в *фокальной плоскости*, рассматривают через луну — окуляр.

Более точно (и удобно), чем со спектрографами, спектральное распределение энергии измеряется с помощью монохроматоров, т. е. приборов, служащих для выделения отдельных длин волн или, точнее, узких участков спектра. Если в *фокальной плоскости* спектрографа поместить выходную щель, подобную входной, то, перемещая ее вдоль спектра, можно выделять различные его участки. Однако такой путь неудобен по ряду причин, в частности потому, что в этом случае вместе с выходной щелью пришлось бы передвигать и приемник, измеряющий энергию выделяемого излучения. Поэтому монохроматоры обычно конструируют иначе. Выходная щель остается неподвижной, но поворотом призмы (или, в некоторых схемах, призмы с зеркалом) в выходную щель подаются различные участки спектра.

Отечественной промышленностью выпускается монохроматор УМ-2, очень удобный для измерения спектров в видимой области. В качестве приемника излучения следует выбрать фотоэлектронный умножитель (интенсивность света, прошедшего через монохроматор, мала), желательно с висмута-серебряно-цезиевым *) катодом (например, ФЭУ-27), чтобы охватить всю видимую область. В качестве эталонной лампы с известным спектром берется обычно светоизмерительная лампа накаливания, у которой предварительно измерен спектр излучения или цветовая температура, по которой можно рассчитать спектр (такие определения выполняются в специализированных фотометрических или светотехнических лабораториях).

4. Измерения послесвечения

Кроме измерений интенсивности и спектрального состава люминесцентного излучения при решении некоторых аналитических задач представляет интерес оценка длительности послесвечения люминесценции (см., например, [13]). Такие измерения могут производиться на специально конструируемых фосфороскопах или с помощью осциллографической записи показаний приемника, измеряющего интенсивность люминесценции после прекращения возбуждения. Удобный прибор для исследований кривых разгорания и затухания люминесценции предложен Н. А. Толстым и П. П. Феофиловым [14, 15] и назван ими тауметром.

*) Или мультищелочным (см. сноску на стр. 111).

В. АППАРАТУРА

1. Некоторые приборы специального назначения
(выпускаемые промышленностью)

В последние годы в нашей стране и за рубежом разработан ряд специализированных приборов для решения различных задач люминесцентного анализа [16]. Так, несколько приборов различной степени сложности, предназначенных в основном для минералогических целей, но пригодных частично и для других задач, разработано Всесоюзным научно-исследовательским геологическим институтом совместно с заводом «Геологоразведка».

Эти приборы, описанные З. М. Свердловым [17], приводятся здесь в качестве примеров.

Аналитическая лампа (осветитель) ЛЮМ-1 предназначена для возбуждения люминесценции длинноволновым ультрафиолетовым излучением. Ртутная лампа ПРК-4, в металлическом кожухе с большим светофильтром УФСЗ, закреплена на рычаге, дающем возможность устанавливать ее в любом положении. Лампа снабжена смонтированным в небольшом ящике блоком питания, включаемым в сеть переменного тока напряжением 127 и 220 в.

Для получения коротковолнового ультрафиолетового излучения служит люминесцентный минералоскоп ЛЮМ-2, в котором работает та же лампа ПРК-4 в режиме тлеющего разряда, возбуждаемого автомобильной бобиной (см. стр. 105). Излучение проходит через светофильтр УФС1. Прибор также питается от сети.

В полевом люминоскопе «Полюс» автомобильная бобина, возбуждающая тлеющий разряд в лампе ПРК-4, питается от батареи щелочных аккумуляторов напряжением 6 в. Прибор снабжен спектроскопом.

В универсальном полевом люминоскопе ПЛС-53 в качестве источника близкого ультрафиолетового излучения служит солнце, а коротковолнового видимого — лампочка карманного фонаря (через фильтр ФС1). Для поглощения видимых лучей, пропускаемых ФС1, подобраны скрещенные светофильтры. Лампочка карманного фонаря используется и в полевом ураноскопе ПЛС-55.

Для количественных исследований предназначены люминесцентный колориметр ЛЮКС-1 и люминесцентный фотометр ЛЮФ-51. Оба эти прибора являются визуальными фотометрами, из которых первый служит для измерения интенсивности люминесценции в растворах, а второй — люминесценции урана в перлах фтористого натрия. Источником возбуждения в обоих случаях служит лампа ПРК-4 с фильтром УФСЗ, работающая в нормальном режиме дугового разряда с питанием от сети.

В полевом люминесцентном фотометре ЛФС-54 (визуальном) в качестве источника возбуждения используется лампочка УФО-4А.

В фотоэлектрическом абсорбциометре ФАС-1 источником коротковолнового и длинноволнового ультрафиолетового излучения служит лампа УФО-4А с фильтрами УФС1 и УФСЗ *). Приемником излучения в приборе является фотоумножитель ФЭУ-19 **).

*) Следует отметить, что в излучении УФО-4А энергия в коротковолновой области очень мала. В излучении, проходящем через фильтр УФС1, будет преобладать ближнее ультрафиолетовое излучение.

**) В настоящее время Московским опытным заводом контрольных приборов выпущена опытная партия фотоэлектрических фотометров ЭФ-3, предназначенных для определения витаминов В₁ и В₂.

К этой серии относится также люминесцентный микроспектрметр ЛМС-1, позволяющий наблюдать и сравнивать спектры люминесценции микроскопических объектов, возбуждаемых лампой ПРК-4 через фильтр УФСЗ.

Существует ряд других приборов, представляющих общий интерес. Ленинградский машиностроительный завод выпустил партию осветителей Л-1, работающих, как и ЛЮМ-1, с лампой ПРК-4 и фильтром УФСЗ, но приспособленных главным образом для исследования продовольственных и сельскохозяйственных продуктов. Этот прибор снабжен почерненным предметным столиком, удобным для рассматривания мелких предметов. Для освещения больших поверхностей могут быть использованы осветители, выпускаемые заводом «Гостеасвет», которые работают с мощными лампами ПРК-7 (они разработаны для целей театральной техники и кинотехники).

В качестве источников концентрированного пучка ультрафиолетового излучения можно рекомендовать осветители, использующие ртутные лампы сверхвысокого давления с оптическими устройствами (зеркалами, линзами и светофильтрами). Ленинградский физико-механический техникум выпускает два типа таких осветителей, разработанных А. В. Нарякиным и В. С. Пентюриным: КП-1Н с лампой СВД-120А (создает равномерное освещение ультрафиолетовыми лучами на поверхности 40×70 см² на расстоянии 80 см от лампы) и более мощный медицинский люминескоп КП-1МЛ (с лампой ДРШ-250-3).

Для наблюдения люминесценции очень малых объектов используют микроскопы (гл. V, стр. 74). Осветители и аппаратура, применяемые при люминесцентно-микроскопических исследованиях биологических объектов, описаны в гл. XVIII.

Для работы с микроскопическими объектами, возбуждаемыми далеким ультрафиолетовым излучением, Е. М. Брумберг и З. М. Свердлов применили искру между железными электродами [13].

Для выделения нужной области спектра они вместо светофильтра использовали упрощенную схему бесщелевого монохроматора, состоявшего из одной линзы и призмы (см. гл. XIV). Входной щелью служила сама искра, отображаемая линзой на плоскость объекта через призму. Поворачивая призму, можно было подавать на объект различные участки спектра источника возбуждения. Под действием коротковолнового ультрафиолетового излучения иногда люминесцирует объектив микроскопа, и это мешает наблюдению. Брумберг и Свердлов защитили объектив светофильтром в виде тонкого нелюминесцирующего стеклышка, непрозрачного для ультрафиолетового излучения.

2. Некоторые лабораторные установки

В литературе описаны конструкции порою очень сложных приборов, предназначенных для тех или иных специальных целей. Однако следует иметь в виду, что часто многие задачи решаются простыми приспособлениями, построенными на основе изложенных выше соображений. Это относится, в частности, и к простейшему фотоэлектрическому фотометру, который можно построить своими силами без большого труда*).

*) Поучительно, что в одной зарубежной работе авторы, жалуясь на чрезмерную дороговизну фирменных фотометров для измерения интенсивности люминесценции (называемых в зарубежной литературе флуорометрами), предлагают более простой прибор, характеризующийся, по их мнению, большей надежностью и точностью [18].

На рис. 43 показана простейшая установка для наблюдения люминесценции. В верхней половине ящика, разделенного горизонтальной перегородкой, помещается источник возбуждения, например лампа ПРК. Она освещает нижнюю половину через окно, закрытое светофильтром (например, УФС4 — наиболее термостойким). В нижней половине помещаются исследуемые образцы, люминесценция которых наблюдается. Если желательно вести наблюдения в незатемненном помещении, ящик следует снабдить ширмой из черной ткани.

Такой ящик может быть выполнен из металла и даже из дерева, но в последнем случае необходимо защитить его от перегрева (разместить лампу подалеже от дерева, воспользоваться асбестовыми прокладками).

Заменив лампу ПРК-4 лампой БУВ-15, а фильтр УФС4 фильтром УФС1, можно наблюдать люминесценцию, возбуждаемую коротковолновым ультрафиолетовым излучением (если эта люминесценция интенсивна, можно обойтись без фильтра).

а) *Фотометр Аленцева*. При конструировании этого фотометра ставились следующие задачи.

1. Возможность изготовления его в механической мастерской без использования не всегда доступных оптических фотометрических деталей (кубиков Люммера, призм, бипризмы и др.).

2. Максимальная светосила, т. е. минимальное ослабление видимой яркости измеряемого источника по сравнению с наблюдаемой невооруженным глазом.

3. Изменение яркости источника сравнения в широких пределах.

4. Возможность рассчитывать изменение яркости источника сравнения, не прибегая к градуировке.

Эти требования в значительной степени выполнены в описываемой ниже конструкции прибора (рис. 44).

Люминесцирующий объект 1, интенсивность которого подлежит измерению, помещается перед круглым входным отверстием 2 фотометра. Это отверстие имеет диаметр $d=10$ мм.

С помощью окулярной линзы 3 с фокусным расстоянием $f=8$ см входное отверстие изображается в натуральную величину на выходном окулярном отверстии 4, имеющем тоже диаметр 10 мм.

В соответствии с этим расстояния l_1 и l_2 равны друг другу и при использовании линзы с фокусным расстоянием 8 см равны 16 см. В этих условиях глаз, расположенный перед окулярным отверстием, видит поверхность линзы 3 с яркостью, равной яркости источника, за исключением небольшой ($\sim 8\%$) потери света из-за отражения от поверхностей линзы.

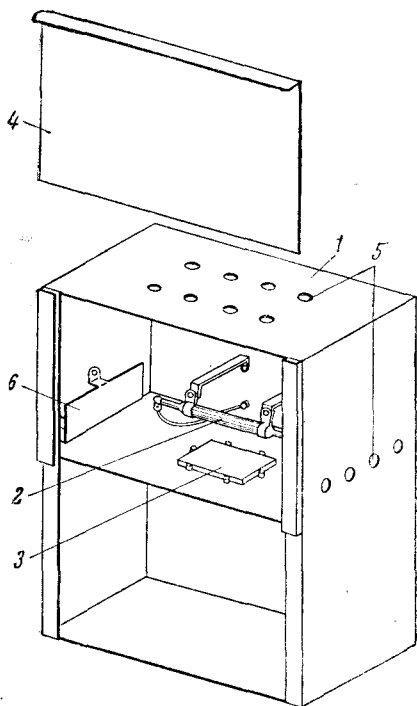


Рис. 43. Простейшая установка для наблюдения люминесценции:

1 — ящик; 2 — лампа; 3 — светофильтр; 4 — крышка, закрывающая верхнее отделение с лампой; 5 — вентиляционные отверстия; 6 — щиток, защищающий вентиляционные отверстия от прямого излучения лампы.

На пути лучей от измеряемого источника помещена квадратная пластинка *5* из нержавеющей стали или алюминия. В середине этой пластинки имеется отверстие *6* диаметром 12 мм. Свет от измеряемого объекта проходит через это отверстие, и оно служит одним из полей сравнения фотометра, наблюдаемым в окулярную линзу.

Обращенная к глазу поверхность пластинки зеркально отполирована. Зеркало поставлено под углом 45° к направлению оси окуляра и направляет в окуляр свет от источника сравнения, помещенного перед патрубком *7*. Таким образом, глаз видит в поле зрения овальное отверстие в центре поля зрения, освещенное измеряемым источником, и кольцевое поле вокруг, освещенное светом источника сравнения. Отверстие *6* сделано

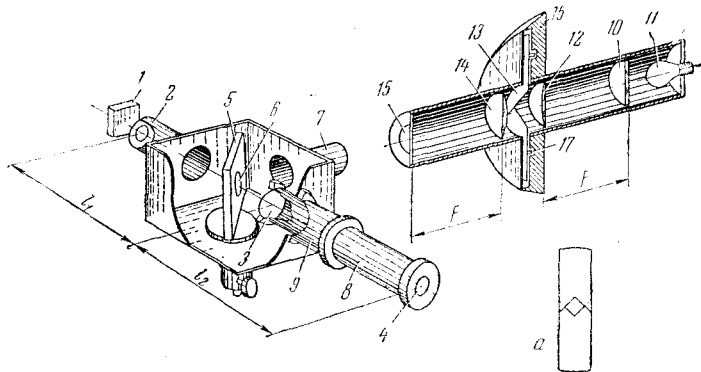


Рис. 44. Фотометр Аленцева.

коническим, расширяющимся с задней стороны, чтобы свет от измеряемого источника доходил до переднего отверстия и освещал его полностью. Окулярная труба *8* может перемещаться в трубке *9* для получения наиболее резкого изображения полей сравнения.

Вся эта фотометрическая часть закреплена на штативе (на рисунке не изображен) с помощью зажимного устройства, в котором зажимается патрубок *7*, и может поворачиваться вокруг оси патрубка для работы при наиболее удобном наклоне.

Источник сравнения представляет собой отдельное устройство, показанное в разрезе на том же рисунке. При измерениях оно придвигается вплотную к патрубку *7*.

В этом устройстве молочное стекло *10* освещается лампочкой накаливания *11*. Стекло *10* находится в главном фокусе линзы *12*, имеющей фокусное расстояние $F=12,5$ см. Свет от этой линзы проходит через диафрагму, состоящую из двух движущихся навстречу друг другу пластинок (рисунок 44, *a*). Сдвигаясь, эти пластинки образуют между собой квадратное отверстие. При максимальном раскрытии сторона квадрата равна 30 мм.

Пройдя диафрагму, свет попадает на вторую линзу *14* с таким же фокусным расстоянием $F=12,5$ см, и в главном фокусе этой линзы на втором молочном стекле *15* получается изображение стекла *10*. Стекло *15* и служит источником сравнения, так как его яркость изменяется точно пропорционально площади отверстия в диафрагме. Для изменения этой площади пластинки *13* сдвигаются или раздвигаются с помощью спирального паза в барабане *16*, в который входят штифты *17*, имеющиеся у пластинок.

Таким образом, поворот барабана, отсчитываемый по шкале, нанесенной на его внешней поверхности, дает возможность изменять в большое число раз яркость стекла 15. Это устройство может также служить источником переменной яркости для градуировки различных измерительных оптических устройств. Так, оно часто применялось для проверки линейности фотоумножителей (пропорциональности тока интенсивности измеряемого света). Надежная работа этого устройства была проверена при изменении яркости в 4000 раз.

При работе с фотометром барабан вращают до получения равенства фотометрических полей. После этого на барабане отсчитывается яркость. При этом следует иметь в виду, что поворот барабана пропорционален линейному размеру отверстия диафрагмы, а площадь отверстия, определяющая яркость, пропорциональна квадрату стороны. Поэтому числа, отсчитанные по шкале барабана, должны быть возведены в квадрат.

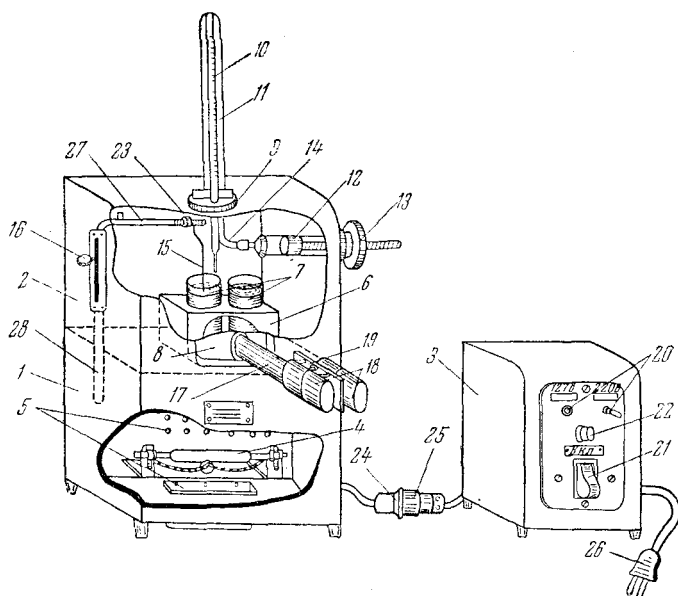


Рис. 45. Общий вид люминометра РП-3:

1 — осветительная камера; 2 — рабочая камера; 3 — устройство для питания ртутно-кварцевой лампы; 4 — ртутно-кварцевая лампа ПРК-4; 5 — вентиляционные отверстия; 6 — штатив; 7 — кюветы; 8 — съемная крышка; 9 — съемная пробка; 10 — микробюретка; 11 — экран; 12 — насос; 13 — гайка для перемещения поршня насоса; 14 — резиновая соединительная трубка; 15 — мешалка; 16 — устройство для перемещения мешалки; 17 — трубка для наблюдения; 18 — наглазники; 19 — устройство для изменения расстояния между наглазниками; 20 — переключатель напряжения; 21 — выключатель; 22 — кнопка для включения лампы при пониженном напряжении; 23 — гайка держателя мешалки; 24 — штепсельная вилка люминометра; 25 — удлинитель питающего устройства; 26 — вилка для включения прибора в сеть; 27 — держатель мешалки; 28 — трубка с пружиной.

б) *Люминометр РП-3.* Люминометр РП-3 *) (рис. 45) используется для сравнения интенсивности люминесценции двух растворов. Растворы 7

*) Рабочие чертежи прибора выполнены в Югэнергочермете (Ростов-Дон, ул. Энгельса, 54). Описание упрощенной конструкции см. Ю д и л е в и ч М. М., Инф. письмо № 2/23, ГЭИ, М., 1955.

помещаются в камере прибора; к одному из них из микробюретки 10 добавляется растворитель до выравнивания интенсивностей свечения (концентрации). Заполнение микробюретки и спуск жидкости из нее производится при помощи поршневого насоса 12; раствор во время добавления перемешивается с помощью съемной мешалки 15, закрепленной гайкой 23 на держателе 27; перемешивание производится перемещением рычага мешалки 16, помещенного на наружной стенке прибора. Возвращение мешалки в исходное положение достигается действием пружины, помещенной в трубке 28.

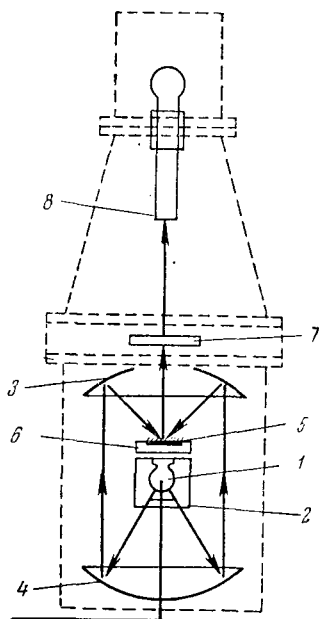


Рис. 46. Оптическая схема прибора КФА-2.

Растворы возбуждаются снизу, наблюдаются сбоку.

Прибор удобен и для проведения титрования с флуоресцентными индикаторами.

в) *Люминометр КФА-2* *). Прибор может быть применен для измерения интенсивности люминесценции любых твердых, жидких и порошкообразных веществ при исключительно малой яркости их свечения (даже едва уловимого глазом).

Оптическая схема прибора КФА-2 приведена на рис. 46.

В качестве источника ультрафиолетовых лучей применена лампа типа УФО-4А 1, которая помещена в металлическом корпусе с диафрагмой, прикрытой светофильтром УФСЗ 2. С помощью двух вогнутых алюминированных зеркал 3 и 4 изображение диафрагмы совмещается с поверхностью исследуемого вещества, которое находится в кювете 5, на предметном столике 6. В зеркале 3 вырезано круглое отверстие, обеспечивающее доступ вторичного излучения к катоду фотоумножителя ФЭУ-19 8. На пути к фотоумножителю

излучение проходит через пакет светофильтров 7. Смена светофильтров или их комбинаций позволяет выделять монохроматические компоненты из вторичного излучения.

г) *Применение осветителя Вуда для люминесцентного анализа растворов.* Осветитель, входящий в комплект принадлежностей к спектрографу ИСП-51 под названием «Осветитель с водяным охлаждением, ПС-44» (осветитель Вуда), можно использовать для возбуждения люминесценции слабосветящихся растворов.

Этот осветитель состоит из полого корпуса 1 (см. рис. 47), укрепленного на стойке. Внутренняя поверхность осветителя представляет собой цилиндр с эллиптическим поперечным сечением. Ртутно-кварцевая лампа ПРК-2 2 укрепляется в нем таким образом, чтобы ее светящееся тело совпадало с одной из фокусных линий эллиптического цилиндра. Свет лампы, отраженный от эллиптической поверхности, собирается в кювету с исследуемым раствором 3, расположенную вдоль другой фокус-

*) Прибор КФА-2 разработан и сконструирован в НИИ резиновых и латексных изделий (НИИР).

ной линии цилиндра. Благодаря этому достигается наиболее полное использование возбуждающего света. Для лучшего отражения света внутренние поверхности цилиндра и боковых съемных крышек, с помощью которых монтируются лампа и кювета, хромированы и полированы.

Так как при работе лампа ПРК-2 выделяет большое количество тепла, то для его отвода устроено водяное охлаждение цилиндра: холодная вода непрерывно циркулирует через полость, окружающую цилиндр и тепловой фильтр 4. Тепловой фильтр представляет собой плоскую стеклянную кювету, расположенную внутри цилиндра между лампой и сосудом с исследуемым раствором. Он служит для теплоизоляции сосуда с раствором и светофильтров 5, помещаемых параллельно теплому фильтру и предназначенных для выделения из света ртутно-кварцевой лампы требуемой области возбуждения.

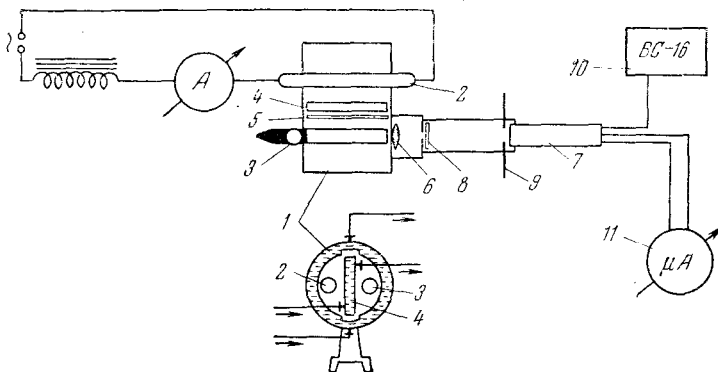


Рис. 47. Схема фотометра с осветителем Вуда.

Сосуд для исследуемого раствора в рабочей части представляет собой стеклянную цилиндрическую трубку диаметром 20 мм и длиной 100 мм с плоскопараллельной передней стенкой; задний конец сосуда отогнут вниз в виде «рога» и зачернен для исключения засветок (см. рис. 48).

Для целей люминесцентного анализа отрезок с шариком отрезается и оставляется только небольшой кусок трубки для заполнения сосуда раствором. Умеренный ток холодной воды через тепловой фильтр обеспечивает постоянство температуры раствора в сосуде (без теплового фильтра исследуемый раствор в сосуде закипает через несколько минут). На передней стенке цилиндрического сосуда укреплена стеклянная линза 6 (F около 5 см), фокусирующая свет люминесценции исследуемого объема раствора на катоде фотоумножителя 7 (см. рис. 47). Фокусное расстояние линзы подбирается таким образом, чтобы изображение стенок сосуда срезалось круглой диафрагмой и не попадало на помещенный за ней катод ФЭУ. Линза крепится на держателе для сосуда, который в свою очередь прикреплен к передней боковой крышке эллиптического цилиндра.

Светонепроницаемый кожух для ФЭУ оканчивается патрубком, в который вмонтированы коробка-держатель фильтров 8 (для выделения отдельных областей свечения исследуемого раствора) и фотозатвор 9. Патру-

бок плотно соединяется с передней стенкой осветителя для изоляции ФЭУ от внешних засветок.

На ФЭУ необходимо подать постоянное напряжение (500—1500 в), что легко осуществляется с помощью любого подходящего выпрямителя 10 (например, ВС-9 или ВС-16) или батареей ГБ.

Ток с ФЭУ подается на микроамперметр 11 (например, типа М-91 на 3 мка).

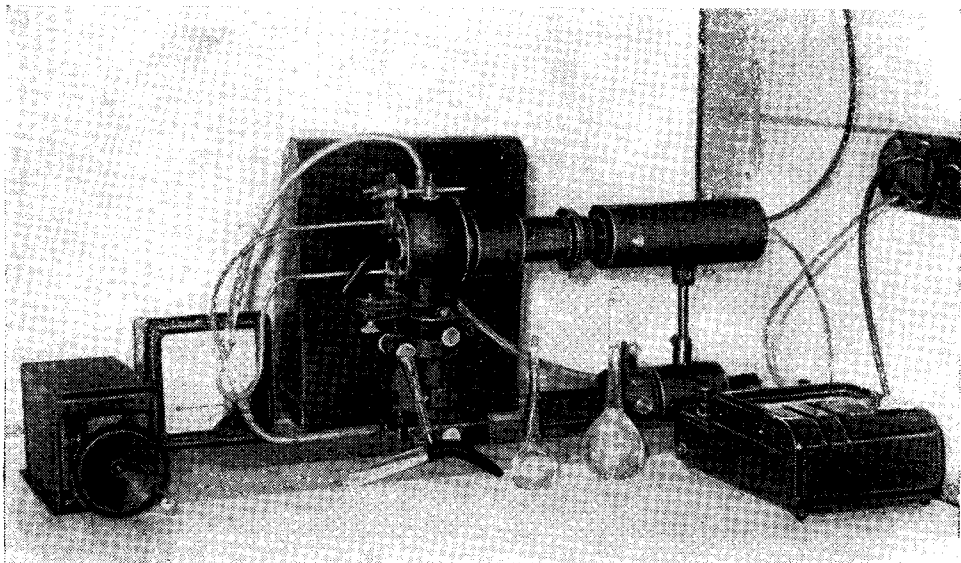


Рис. 48. Общий вид фотометра с осветителем Вуда.

В описанном устройстве, благодаря почти полному использованию возбуждающего света и хорошему использованию света люминесценции, удастся измерять свечение чрезвычайно сильно разбавленных растворов. Так, установка позволяет измерять свечение водного раствора флуоресцеина (с добавкой NaOH) концентрации 10^{-11} моль/л и реагирует на концентрацию 10^{-12} моль/л.

ЛИТЕРАТУРА к гл. VII

1. А. Мейер и Э. Зейтц, Ультрафиолетовое излучение, М., 1952.
2. А. П. Иванов, Электрические источники света, часть 1, М.—Л., 1938.
3. Справочная книга по светотехнике, т. 1, М., 1956.
4. Электрические лампы накаливания. Каталог, М., 1952.
5. Д. Н. Лазарев и Д. П. Эрастов, Материалы IV совещания по люминесценции, Минск, 1955.
6. В. П. Данилов, Б. И. Вайнберг, Ф. М. Пекерман, Материалы IV совещания по люминесценции, Минск, 1955.
7. М. Н. Аленцев, С. М. Букштейн, И. П. Калинин, Т. В. Кузина, Ф. М. Пекерман, Известия АН СССР, сер. физич. 15, № 6, 824 (1951); М. Н. Аленцев и Л. А. Винокуров, Известия АН СССР, сер. физич. 15, № 6, 725 (1951).

8. Г. Ф. Комовский и Е. Г. Разумная, Советская геология 8, № 11, 111 (1938).
9. Г. Ф. Комовский, Зав. лабор. 8, 514 (1939).
10. Г. Ф. Комовский и Ф. А. Аболениский, Проблемы советской геологии, № 4, 332 (1938).
11. М. Г. Богословский, П. В. Савицкая, С. Г. Соломкина, Советская геология 8, № 10, 99 (1938).
12. П. П. Соловьев, Катодолюминесцентный анализ руд и продуктов их обогащения (вып. 91), Металлургиздат, М., 1954.
13. Е. М. Брумберг и З. М. Свердлов, Изв. АН СССР, сер. физич. 4, 75 (1940).
14. Н. А. Толстой и П. П. Феофилов, ДАН СССР 58, 389 (1947).
15. Н. А. Толстой и П. П. Феофилов, УФН 41, 44 (1950).
16. М. А. Константинова-Шлезингер, Реферативный сборник по люминесцентному анализу, стр. 60, 77, 78, 94, М., 1954.
17. З. М. Свердлов, Изв. АН СССР, сер. физич. 21, № 4, 623 (1957).
18. W. C. Alford, J. H. Daniel, Anal. Chem. 23, № 8, 1130 (1951).

ГЛАВА VIII

ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ИНДИКАТОРЫ

1. Возможности и условия применения флуоресцентных индикаторов

Как указано в главе III, у органических веществ, обладающих кислотными или основными свойствами, в зависимости от рН среды могут изменяться их абсорбционные и люминесцентные свойства; поэтому такие вещества используют как рН-индикаторы. У обычных индикаторов наблюдают изменение окраски, у флуоресцентных — изменение цвета и интенсивности люминесценции.

Обратимое изменение цвета и люминесцентных свойств может вызываться и изменением окислительно-восстановительного потенциала среды, т. е. прибавлением окислителей или восстановителей. Вещества, у которых такие изменения наблюдаются, используют как окислительно-восстановительные индикаторы — обычные, если наблюдают изменения абсорбции (окраски), и флуоресцентные, если наблюдают изменения люминесцентных свойств.

Флуоресцентными индикаторами пользуются при работе с темноокрашенными или мутными растворами, в которых не видно изменение цвета обычных индикаторов, например при работе с винами, маслами, с растворами солей цветных металлов, растворами технических продуктов и т. д.

Флуоресцентные индикаторы имеют и то преимущество, что позволяют довольствоваться ничтожно малыми их количествами. Наконец, флуоресцентные индикаторы позволяют восполнить пробелы в цветных индикаторах, поскольку среди последних отсутствуют индикаторы, отвечающие некоторым определенным требованиям.

Приводим таблицу флуоресцентных индикаторов (табл. 6) с указанием области их перехода и изменения цвета флуоресценции.

Эта таблица перепечатана из книги Данкворта «Люминесцентный анализ» [1]. В ней в графе третьей дается характеристика флуоресценции индикатора; «—» обозначает, что флуоресценция отсутствует (в оригинале у Данкворта обозначено «бесцветный»). К данным этой таблицы следует относиться как к ориентировочным, они суммируют наблюдения различных авторов, пользовавшихся этими индикаторами при разрешении стоявших перед ними практических задач, и соответственно, как будет ясно из дальнейшего, не могут претендовать на точность; этим объясняется большая величина указываемого интервала превращения, приводимая для некоторых из индикаторов.

Некоторые авторы предлагают применять флуоресцентные индикаторы в обычных лабораторных условиях при дневном освещении [2]. Чаще

Таблица 6

Флуоресцентный индикатор	рН области перехода	Цвет флуоресценции	
		до перехода	после перехода
Бензофлавин	0,3—1,7	Желтый	Зеленый
Имид 3,6-диоксифталевой кислоты	0,0—2,4	Синий	»
Эозин	0,0—3,0	—	Желто-зеленый
Эскулин	1,0—1,5	Индиго	Синий
4-этоксиакридон	1,2—3,2	Зеленый	»
3,6-тетраметилдиаминоксантон	1,2—3,4	Зеленый	»
β -нафтиламин	2,8—4,4	—	Фиолетовый
Салициловая кислота	3,0—3,5	—	Темно-синий
α -нафтионовая кислота	3,0—6,0	—	Синий
Флоксин	3,4—5,0	—	Светло-желтый
α -нафтиламин	3,4—4,8	—	Синий
Флуоресцен	3,8—6,1	—	Зеленый
Хинин, первый переход	3,8—6,1	Голубой	Фиолетовый
Эритрозин	4,0—4,5	—	Зеленый
Хинная кислота	4,0—5,0	Желтый	Синий
β -метилэскулетин	4,0—6,2	—	»
Дихлорфлуоресцен	4,0—6,0	—	Зеленый
Акридин	4,8—5,0	Зеленый	Фиолетовый
3,6-диоксиксантон	5,4—7,6	—	Сине-фиолетовый
Натриевая соль β -нафтол-6-сульфо- кислоты	5,5—8,0	—	Синий
Нитрил 3,6-диоксифталевой кислоты	5,8—8,2	Синий	Зеленый
Хромотроповая кислота	6,0—7,0	—	Синий
Имид 3,6-диоксифталевой кислоты, второй переход	6,0—8,0	Зеленый	Желто-зеленый
Бриллиант-диазожелтый	6,5—7,5	—	Синий
Умбеллиферон	6,5—7,6	—	»
Магний-8-оксихинолин	7,0—7,2	—	Золотисто-желтый
β -метилумбеллиферон	7,0—7,2	—	Синий
1,4-нафтолсульфокислота	7,0—9,0	Темно-синий	Фиолетово-синий
Кумаровая кислота	7,2—9,0	—	Зеленый
1,2-нафтолсульфокислота	7,6—10	Темно-синий	Голубой
Акридиноранж	8,4—10,4	—	Желто-зеленый
β -нафтол-3,6-дисульфокислота	8,4—10,6	Темно-синий	Голубой
Натриевая соль нафтазола	8,5—10,5	—	Желто-зеленый
β -нафтол	8,6—10,0	—	Синий
Хинин, второй переход	9,5—10	Фиолетовый	—
6,7-диметоксиизохинолин-1-кар- боновая кислота	9,5—11,0	Желтый	Голубой
Кумарин	9,8—12	Бледно-зеленый	Светло-зеленый
Котарнин	12,5	Желтый	Беловатый
α -нафтионовая кислота	12—13	Светло-синий	Зеленый
β -нафтионовая кислота	12—13	Синий	Фиолетовый

все же работают с ними в темной комнате [3] или в светлой, но специально приспособленной камере при освещении фильтрованным ультрафиолетовым светом [4, 5].

Работа в светлой комнате легче осуществима, но при проведении титрования в темной комнате ошибки титрования меньше. Для повышения точности вместо визуального наблюдения за процессом титрования можно следить по гальванометру, соединенному с фотоэлементом [6]. Приводимые в литературе характеристики флуоресцентных индикаторов нередко

противоречивы: расхождения имеются в указываемых значениях рН, и даже иногда не совпадают цвета флуоресценции, приводимые отдельными авторами. Поскольку нет принципиальной разницы между обычными цветными индикаторами и индикаторами флуоресцентными, надежность тех и других одинакова и приходится задуматься над возможными источниками ошибок. Одной из причин расхождения приводимых данных является различие в степени чистоты применяемых реактивов. Большинство флуоресцентных индикаторов представляет собой сложные органические соединения, которые в силу трудностей их синтеза не свободны от загрязнений органическими же примесями; последние в свою очередь тоже могут люминесцировать. Эти примеси могут изменять и интервал значений рН перехода и оттенок флуоресценции индикатора. Другую возможную причину ошибок нетрудно понять, если учесть, что флуоресцентные индикаторы применяют для проведения титрования в окрашенных средах, где изменение окраски обычных индикаторов неуловимы, но люминесцентное излучение хорошо заметно, если по своему спектру оно не совпадает со спектром поглощения среды. Рассмотрим конкретные случаи.

Предположим, что мы применили в качестве индикатора акридин, цвет флуоресценции которого с понижением кислотности раствора переходит из зеленого в фиолетовый, и что с этим индикатором мы ведем титрование в среде, окрашенной в желтый цвет, т. е. в растворе, поглощающем в фиолетовой части спектра; при таких условиях может оказаться, что спектр поглощения среды перекроет спектр флуоресценции нашего индикатора в щелочной среде, т. е. что его флуоресценция фиолетового цвета поглотится средой. При таких условиях наши наблюдения приведут к выводу, что в кислой среде акридин светится зеленым светом, а в щелочной вообще не светится.

Подобного рода искажение наблюдаемого изменения цвета флуоресценции индикатора может, очевидно, иметь место во всех тех случаях, когда спектр флуоресценции индикатора и спектр поглощения среды полностью или частично перекрываются.

Осложняющим моментом при применении флуоресцентных индикаторов может явиться и следующее: поскольку сама среда, в которой ведется титрование, окрашена, может оказаться, что и ее цвет изменяется с повышением или понижением кислотности. Не исключена возможность, что вышеописанное перекрытие спектров флуоресценции индикатора и поглощения среды наступит не потому, что рН раствора достигнет величины, при которой изменяются флуоресцентные свойства индикатора, а вследствие изменения цвета среды, например изменения цвета содержащегося в растворе красителя; следовательно, может случиться, что мы примем за точку перехода индикатора то рН, при котором изменяется поглощение среды. Для большей наглядности разобранный случай схематически изображен на рис. 49. Из рисунка видно, что в присутствии метилоранжа при рН, меньшем точки его перехода, свечение флуоресцеина полностью поглощается метилоранжем.

Наконец, источником недоразумений может явиться тушащее действие компонентов раствора. Например Cl^- -ионы ослабляют (тушат) флуоресценцию хинина, причем тушащее их действие на флуоресценцию голубого цвета двузарядного иона хинина много сильнее, чем на флуоресценцию фиолетового цвета его однозарядного иона. Раствор хинина (основания) при прибавлении кислоты начинает флуоресцировать фиолетовым светом (однозарядный ион хинина); при дальнейшем подкислении цвет флуоресценции переходит в голубой (двузарядного иона). Однако в случае

прибавления водородных ионов в виде соляной кислоты порядок изменения цвета флуоресценции может оказаться нарушенным; при добавлении соляной кислоты к раствору, флуоресцирующему голубым светом, может снова появиться флуоресценция фиолетового цвета вследствие того, что голубая флуоресценция двузарядных ионов тушится сильнее и видимой остается только флуоресценция фиолетового цвета однозарядных ионов хинина, находящихся в равновесии с двузарядными ионами.

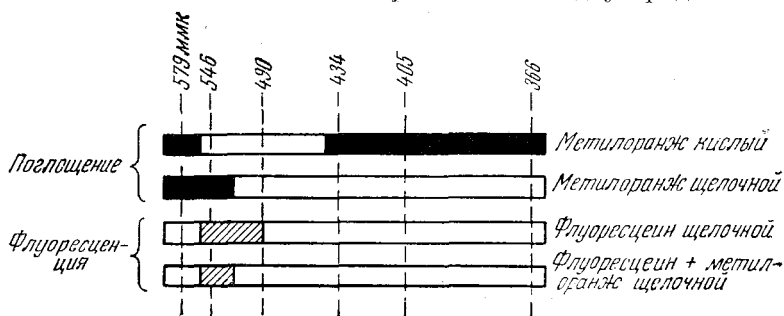


Рис. 49. Перекрывание спектра флуоресценции индикатора и спектра абсорбции среды; черным обозначено пропускание, штриховкой— флуоресценция.

Данный пример возможных искажений результатов наблюдений вследствие тушащего действия компонентов, присутствующих в растворе, является довольно искусственным в том отношении, что вряд ли придется часто встречаться в практике с подобного рода случаями; однако мы намеренно детально остановились на этом примере, как на хорошей иллюстрации тех осложняющих моментов, какие следует учитывать при применении флуоресцентных индикаторов.

2. Индикаторы для растворов разного цвета

Для устранения ошибок, обуславливаемых поглощением люминесцентного излучения самим испытуемым раствором, необходимо подбирать флуоресцентные индикаторы, сообразуясь с цветом испытуемого раствора. Поэтому для каждого значения рН надо иметь по крайней мере два индикатора с различным цветом флуоресценции и соответственно два набора флуоресцентных индикаторов: один — для зеленых и синих испытуемых растворов, цвет люминесценции этих индикаторов должен быть зеленым или синим; другой — для работы с красными, коричневыми и желтыми растворами, цвет свечения одной из форм индикатора должен быть в этом случае красным, коричневым или желтым (ср. рис. 4, стр. 17).

Работа по подбору таких флуоресцентных индикаторов и по созданию новых проводится в Институте химических реактивов. Индикаторов с синим и зеленым цветом флуоресценции описано более 150. Из числа их в таблице 7 приведены индикаторы наиболее доступные и обладающие наибольшей яркостью люминесценции и наибольшей контрастностью в области перехода*). (Для работы употребляют обычно 0,1% раствор индикатора в воде или этиловом спирте; на 50 мл титруемого раствора прибавляют 0,1—0,2 мл индикатора.)

*) В этой и во всех последующих таблицах структурные формулы реактивов написаны в соответствии с книгой И. М. Когана «Химия красителей», Москва, 1956.

Таблица 7*)

№ п/п	Флуоресцентный индикатор		рН области перехода	Изменение цвета флуоресценции при возрастании рН		Литера- тура
	наименование	формула				
1	4-этоксинакридон		1,3—3,2	Зеленый	Синий	[7], [8]
2	2-нафтиламин		2,8—4,4	—	Фиолетовый	[7], [8]
3	1-нафтиламин		3,4—4,8	—	Синий	[7], [8]
4	Акридин		4,8—6,6	Зеленый	Фиолетовый	[9]
5	4-метилумбеллиферон		5,8—7,5	—	Синий	[2]
6	Г-соль **)		7,5—9,0	—	»	[7], [10]
7	Р-соль **)		8,0—10,5	Зеленый	»	[7], [11]
8	СС-кислота **)		10,0—12,0	Фиолетовый	Зеленый	[11]

*) Все перечисленные в этой таблице вещества выпускаются отечественной промышленностью и продаются трестом «Союзреактив».

**) Растворитель — вода.

Индикаторов с красным, оранжевым и желтым цветом флуоресценции мало и они труднодоступны, так как или совсем не производятся нашей промышленностью, или же выпускаемые препараты приходится перед употреблением тщательно очищать. В таблице 8 приведены наиболее доступные индикаторы этого типа.

3. Окислительно-восстановительные индикаторы

Флуоресцентные окислительно-восстановительные индикаторы еще мало изучены; не определены даже их окислительно-восстановительные потенциалы. Случаи их применения с использованием возбуждения ультрафиолетовым излучением описаны в сравнительно немногих работах. Соответствующие данные приведены в таблице 9.

Как и в случае флуоресцентных рН-индикаторов, при выборе окислительно-восстановительных флуоресцентных индикаторов надо их подбирать так, чтобы цвет флуоресценции раствора индикатора не был дополнительным к цвету испытуемого раствора, т. е. чтобы флуоресцентное излучение раствором не поглощалось.

4. Флуоресцентные адсорбционные индикаторы

Предложенные в двадцатых годах Фаянсом адсорбционные флуоресцентные индикаторы [21] в дальнейшем получили широкое распространение. Применение их при обычном (дневном) свете общеизвестно и описано в руководствах по объемному анализу [22].

В настоящее время при работе с ними применяют освещение ультрафиолетовыми лучами и этим достигают значительного увеличения контрастности наблюдаемой картины в области перехода индикатора, особенно в тех случаях, когда титруют окрашенные растворы, например соли меди, кобальта, никеля и т. д.

Изменения флуоресценции адсорбционных индикаторов в ультрафиолетовом свете в общем случае могут быть двух родов; разберем их на примере титрования в присутствии флуоресцеина.

I. Если к раствору азотнокислого серебра добавить флуоресцеин, то возникает яркая зеленая флуоресценция. При последующем добавлении первых капель раствора хлорида флуоресценция тухнет вследствие того, что флуоресцеин адсорбируется осаждающимся хлористым серебром; краситель адсорбируется в форме отрицательных ионов, так как осадок заряжен положительно ионами серебра, адсорбированными из раствора. При продолжении титрования тотчас же после «эквивалентной» точки *) осадок хлорида серебра перезаряжается, так как ионов серебра уже в растворе не остается и из раствора адсорбируются ионы хлора; в результате флуоресцеин снова переходит в раствор и опять разгорается зеленая флуоресценция.

II. Если, наоборот, к раствору хлорида добавлять раствор азотнокислого серебра, то флуоресценция не изменяется в течение всего титрования, но исчезает после достижения «эквивалентной» точки, когда хлористое серебро начинает заряжаться положительно вследствие адсорбции из раствора избыточных ионов серебра.

Подобным образом ведут себя все адсорбционные индикаторы, у которых способностью люминесцировать обладают анионы. У адсорбционных

*) Эквивалентная точка показывает, что количество добавленного титрованного раствора химически эквивалентно количеству определяемого вещества, т. е. точно соответствует ему по уравнению реакции.

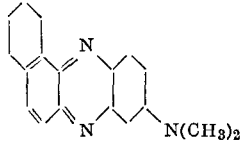
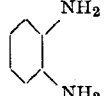
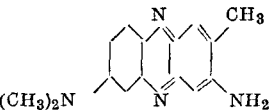
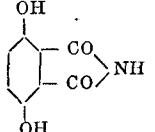
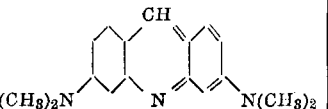
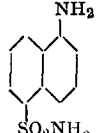
№ п/п	Флуоресцентный индикатор		рН области перехода	Изменение цвета флуоресценции при возрастании рН	Примечание	Литература
	наименование	формула				
1	Диметилнафтейродин		3,0—3,6	Фиолетовый—оранжевый	Ввиду нерастворимости индикатора в воде к испытуемому раствору следует добавить перед титрованием спирт в количестве 20%.	[12]
2	О-фенилендиамин		3,0—5,0	Бесцветный—оранжевый	Недосток этого индикатора в том, что до употребления раствор его (0,1%) должен стоять 2—3 м-ца (по-видимому, индикатором служит продукт его окисления).	[13]
3	Нейтральный красный		5,0—7,4	Фиолетовый—оранжевый	Имеющийся в продаже индикатор (солянокислую соль) растворяют в воде и осаждают основание раствором едкого натра, отфильтровывают, сушат и перекристаллизовывают из спирта.	[14]
4	3,6-диоксифталимид		6,0—8,0	Желтый—желто-зеленый		[8]
5	Акридиновый оранжевый		8,4—9,2	Оранжевый—зеленый	Имеющийся в продаже препарат—соль растворяют в воде и осаждают основание раствором едкого натра, отфильтровывают, сушат и перекристаллизовывают из спирта.	[8], [11]
6	1,5-нафтиламин сульфамид		9,5—13,0	Желто-оранжевый—зеленый		[10]

Таблица 9

№ п/п	Окислительно-восстановительный индикатор	Метод анализа, при котором индикатор применен	Цвет флуоресценции	Литература
1	Трипафлавин	Иодометрия, броматометрия, перманганометрия	Зеленый	[15], [16]
2	α -нафтофлавон	Иодометрия, бромометрия	Синий	[17]
3	Риванол	Иодометрия, бромометрия	Зеленый	[18]
4	Фосфин	Перманганометрия, бромометрия		[18], [19]
5	Родамин С	Перманганометрия, иодо- и бромометрия	Оранжевый	[19], [20]
6	Флуоресцеин	Иодометрия, бромометрия	Зеленый	[19], [20]
7	Кармин	Иодометрия	Синий	[18]

индикаторов основного характера, у которых флуоресцируют катионы, наблюдается, конечно, обратная картина.

В таблице 10 приведены адсорбционные индикаторы и указаны описанные в литературе случаи их применения с использованием ультрафиолетового освещения.

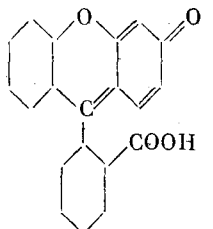
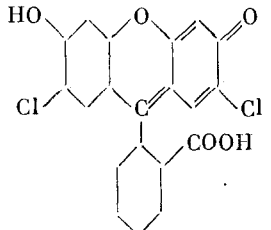
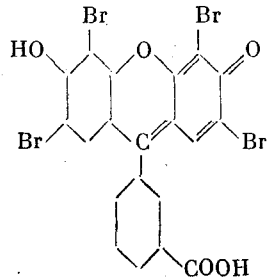
Ряд индикаторов, приведенных в таблице 10, выпускается нашей промышленностью в качестве красителей для микробиологии или как фармацевтические препараты; таковы индикаторы №№ 1, 2, 3, 4, 7, 9, 10, 14. Их с успехом можно применять как флуоресцентные адсорбционные индикаторы. 4-метилумбеллиферон, выпускаемый как кислотно-основной индикатор, не дает удовлетворительных результатов при употреблении в качестве адсорбционного индикатора. Следует также отметить, что определение совместно присутствующих ионов [29] с помощью индикаторов указанной квалификации удается далеко не всегда.

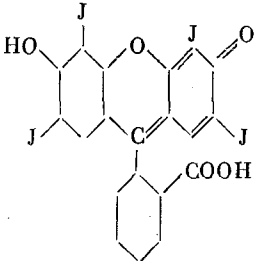
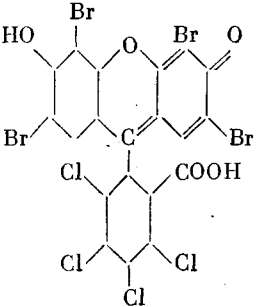
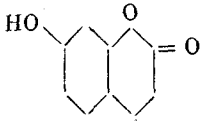
Напомним, что при использовании адсорбционного индикатора для той или иной реакции надо выбирать такой индикатор, для которого рН перехода не совпадает с рН, при котором ведется титрование, кроме того, надо учитывать соотношение сил адсорбции неорганического иона и иона индикатора. Например, в вышерассмотренном случае ион хлора не мог бы вытеснить флуоресцеин, адсорбированный на AgCl, если бы сила адсорбции его была меньше, чем у флуоресцеина. При несоблюдении этих условий изменение флуоресценции может не совпасть с эквивалентной точкой и это приведет к ошибке в определении. Этим объясняется, что, например, эозин советуют использовать для определения бромидов и иодидов, но не рекомендуют применять при титровании хлоридов.

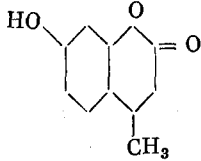
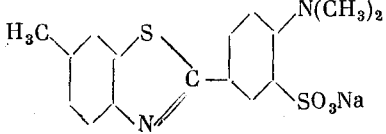
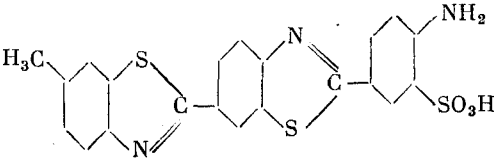
Сказанное выше о необходимости подбора флуоресцентных индикаторов по цвету свечения в полной мере относится, разумеется, и к адсорбционным индикаторам.

За последние годы опубликован ряд работ по применению адсорбционных индикаторов для открытия некоторых катионов и анионов. Соответствующие реакции приведены в главе XII. Отметим, что флуоресцентным рН-индикаторам продолжают уделять много внимания. За последние годы предложены новые индикаторы [30], описаны случаи их применения, изучается зависимость флуоресценции от строения индикаторов [31].

Таблица 10

№ п/п	Флуоресцентный адсорбционный индикатор		Цвет флуорес- ценции	Определя- емый ион	Добавляемый ион-осади- тель	Лите- ратура
	наименование	формула				
1	Флуоресцеин		Зеленый	Cl^- Pb^{++} Br^- , J^- , CrO_4^- Ag^+	Ag^+ HPO_4^{--} , CrO_4^- Ag^+ Cl^- , Br^- , J^-	[23] [24] [23] [25]
2	Дихлорфлуорес- цеин		Зеленый	Cl^-	Ag^+	[23]
3	Эозин		Зеленый	Cl^- Pb^{++} Cl^- , Br^- , J^- , CrO_4^- Ag^+	Ag^+ HPO_4^{--} Ag^+ Cl^- , Br^- , J	[23] [24] [25] [25]

№ п/п	Флуоресцентный адсорбционный индикатор		Цвет флуоресценции	Определяемый ион	Добавляемый ион-осадитель	Лите- ратура
	наименование	формула				
4	Эритрозин		Зеленый	Pb ⁺⁺ Br ⁻ , J ⁻ , CrO ₄ ⁻ Ag ⁺	C ₂ O ₄ ⁻ Ag ⁺ Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻	[24] [25] [25]
5	Флоксин		Желто-зеле- ный	Cl ⁻ Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻ Ag ⁺	Ag ⁺ Ag ⁺ Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻	[23] [25] [25]
6	Умбеллиферон		Синий	Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻ Ag ⁺ Pb ⁺⁺ Hg ₂ ⁺⁺ WO ₄ ⁻	Ag ⁺ Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻ C ₂ O ₄ ⁻ , CrO ₄ ⁻ Cl ⁻ , CNS ⁻ Pb ⁺⁺	[25] [25] [24] [26]

№ п/п	Флуоресцентный адсорбционный индикатор		Цвет флуоресценции	Определяемый ион	Добавляемый ион-осадитель	Литература
	наименование	формула				
7	4-метилумбеллиферон		Синий	Pb ⁺⁺ Hg ₂ ⁺⁺ Ag ⁺ Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻ , CrO ₄ ⁻	C ₂ O ₄ ⁻ , CrO ₄ ⁻ Cl ⁻ Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻ Ag ⁺	[24] [24] [25] [25]
8	2-нафтолсульфокислота	Положение сульфогруппы не указано	Сине-фиолетовый	Cl ⁻	Ag ⁺	[23]
9	Тиофлавин S		Синий	Pb ⁺⁺ Ag ⁺ Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻	HPO ₄ ⁻ Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻ Ag ⁺	[24] [27] [25]
10	Примулин		Синий	Pb ⁺⁺ Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻ Ag ⁺	HPO ₄ ⁻ Ag ⁺ Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻	[24] [25] [25]
11	Хининсульфат	C ₂₀ H ₂₄ O ₂ N ₂ · H ₂ SO ₄	Синий	Hg ₂ ⁺⁺ Cl ⁻ WO ₄ ⁻	CrO ₄ ⁻ , Fe(CN) ₆ ⁴⁻ Ag ⁺ Pb ⁺⁺	[24] [28] [26]

№ п/п	Флуоресцентный адсорбционный индикатор		Цвет флуоресценции	Определяемый ион	Добавляемый ион-осадитель	Литература
	наименование	формула				
12	Трипафлавин		Желто-зеленый	Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻ CrO ₄ ⁻ , Fe(CN) ₆ ⁻ Ag ⁺	Ag ⁺ Ag ⁺ Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻	[25] [25] [25]
13	Морин		Зеленый	Pb ⁺⁺	Fe(CN) ₆ ⁻	[24]
14	Родамин 6С		Желто-зеленый	Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻ , CrO ₄ ⁻ Ag ⁺	Ag ⁺ Cl ⁻ , Br ⁻ , J ⁻	[25] [25]

Сведения по флуоресцентным индикаторам приведены в монографиях, указанных в списке литературы [32]. Флуоресцентным индикаторам родственны индикаторы хемилюминесцентные, рассмотренные в главе IX.

ЛИТЕРАТУРА к гл. VIII

1. P. W. Danckwortt und J. Eisenbrand, *Lumineszenzanalyse im filtrierten ultravioletten Licht*, 1956, Leipzig.
2. А. Пукирев, М. Маслова, *Зав. лабор.* 3, 1038 (1934).
3. L. Deibner, *Chim. anal.* 33, 346 (1951). Описана камера сложного устройства. Деления бюретки покрашены флуоресцентной краской.
4. В. Золотавин, Л. Жарова, *Зав. лабор.* 17, 680 (1951).
5. F. Kenney, R. B. Kurtz, *Anal. Chem.* 23, 382 (1951). Камера с тубусом для наблюдения и с мешалкой.
6. V. Veserek, O. Skavronsky, *Chem. Listy* 47, 273 (1953).
7. I. DeMent, *J. Chem. Education* 30, 145 (1953).
8. R. Jensen, *Z. Anal. Ch.* 94, 177 (1933).
9. M. Haitinger, *Mikrochemie* 11, 447 (1932).
10. O. Tomisek, V. Suk, *Chem. Listy* 46, 139 (1952).
11. M. Déribéré, *Ann. chem. anal. chim. appl.* 19, 262, 290 (1937).
12. В. Золотавин, Л. Жарова, Н. Беднягина, *Зав. лабор.* 20, 24 (1954).
13. E. Kocsis, E. Pettko, *Z. anal. Ch.* 124, 45 (1943).
14. L. Szebellédy, K. Sik, *Magyar gyógyszerésztud. Társaság Ertesítője* 14, 409 (1938); *Chem. Zbl.* II, 1819 (1938).
15. H. Gotô, J. Kakita, *J. Chem. Soc. Japan* 64, 515 (1943); *Ch. A.* 41, 3391 (1947).
16. H. Gotô, J. Kakita, *Sci. Repts Research Insts. Tôhoku Univ., Ser. A*, 3, 155 (1951); *Ch. A.* 47, 4240 (1953).
17. H. Gotô, *Science Repts Tôhoku Imp. Univ., Ser. 1*, 29, I (1940); *Chem. Zbl.* II, 3519 (1940).
18. H. Gotô, J. Kakita, *J. Chem. Soc. Japan* 63, 470 (1942); *Ch. A.* 41, 3010 (1947).
19. H. Gotô, *J. Chem. Soc. Japan* 59, 1357 (1938); *Ch. A.* 33, 2062 (1939).
20. H. Gotô, *Science Repts Tôhoku Imp. Univ.* 29, 446 (1940); *Chem. Zbl.* I, 1847 (1941).
21. K. Fajans, O. Hassel, *Z. Elektrochem.* 29, 495 (1923).
22. См., например, И. М. Кольцов, В. Л. Стенгер, *Объемный анализ*, т. I, М.—Л., Госхимиздат, 1950.
23. H. Gotô, *Science Repts Tôhoku Imp. Univ., Ser. I*, 28, 513 (1940); *Chem. Zbl.* II, 2926 (1940).
24. E. Kocsis, J. Kallós, G. Zádor, *Z. anal. Ch.* 126, 452 (1943).
25. E. Kocsis, G. Zádor, J. Kallós, *Z. anal. Ch.* 126, 138 (1943).
26. A. del Campo, F. Sierra, *Anales soc. espan. fis. y quim.* 33, 364 (1935); *Z. anal. Ch.* 104, 279 (1937).
27. E. Kocsis, G. Zádor, *Z. anal. Ch.* 124, 274 (1942).
28. J. Grant, *Analyst* 62, 285 (1937).
29. E. Kocsis, G. Zádor, J. Kallós, *Z. anal. Ch.* 126, 177 (1943).
30. Л. Жарова, В. Золотавин, С. Шаглунов, *Зав. лабор.* 20, 654 (1954).
Podall, *Anal. Chem.* 24, 424 (1952).
J. Vila, L. Arce, *Anals real Soc. espan. fis. y quim.* 47B, 725 (1951); *Ch. A.* 47, 132 (1953).
31. K., Neelakamtam, G. Viswanath, *India Current* 19, 15 (1950); *Chem. Zbl.*, 7228 (1952).
A. Okas, J. Horák, *Collection* 21, 1434 (1956).
31. R. Goodwin, F. Kavanagh, *Arch. Biochemistry* 27, 152 (1950).
Л. П. Жарова, Кандидатская диссертация, Уральский политехнический институт, 1955, Свердловск.
32. O. Tomisek, *Chem. indic. London*, 1950.
J. Radlay, J. Grant, *Fluorescence analysis in ultra-violet light*. 4 ed., London, Chapman & Hall, 1954.

ГЛАВА IX

ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИЯ И ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ЛЮМИНЕСЦЕНТНОМ АНАЛИЗЕ

1. Хемилюминесценция

Элемент фосфор благодаря его большой химической активности встречается в природе только в связанном состоянии.

Выделение его в свободном виде — задача трудная. Тем не менее фосфор стал известен уже в 1669 г., т. е. ранее кислорода, азота и других металлоидов. Брандту посчастливилось открыть фосфор благодаря способности этого элемента светиться в темноте; отсюда и его название phosphorus — «светоносец».

Из различных аллотропических видоизменений фосфора способностью светиться обладает только «белый» фосфор — модификация, наиболее химически активная, подвергающаяся на воздухе постепенному окислению, воспламеняющаяся при 60°. Особенность белого фосфора заключается в том, что химическая энергия, освобождающаяся при его окислении, отдается им в виде светового излучения — так называемой х е м и л ю м и н е с ц е н ц и и.

Другой хорошо всем известный пример хемилюминесценции — свечение в темноте гнилушек дерева.

Издавна привлекало внимание многих ученых свечение живых организмов — светлячков, летающих насекомых, мелькающих, как фонарики, в темноте южных ночей, бактерий, обуславливающих свечение поверхности моря, и т. д. Во всех этих случаях в виде светового излучения отдается энергия, освобождающаяся в живом организме в результате протекающих в нем химических реакций. Таким образом, хемилюминесцентные реакции — процессы, обратные по сравнению с реакциями ф о т о х и м и ч е с к и м и. При фотохимических реакциях превращение вещества протекает за счет поглощенной световой энергии; при хемилюминесцентных реакциях энергия, освобождающаяся при химическом превращении, отдается в виде светового излучения.

В настоящее время известно большое число хемилюминесцентных реакций. Простейшими из них являются реакции взаимодействия паров натрия с хлором, паров ртути с хлором, фосгена или хлора со щелочными металлами в твердом состоянии, реакция окисления некоторых ненасыщенных соединений кремния и т. д.

Многие из этих реакций детально изучены; по спектрам их хемилюминесцентного излучения удалось выяснить, какие именно атомы или молекулы испускают наблюдаемое свечение. Так, в первой реакции — реакции взаимодействия натрия с хлором — в спектре излучения ясно

обнаруживаются линии натрия, во второй — полосатый молекулярный спектр, вероятно хлорной ртути, и т. д. Такие данные позволили до известной степени выяснить механизм этих простейших реакций. Среди более сложных хемилюминесцентных реакций наиболее многочисленны реакции, связанные с окислением органических веществ, например, горение паров эфира и сероуглерода, взаимодействие ацетилена с хлором, окисление углеводородов; реакции окисления в растворах алкоголяей, альдегидов, многоосновных фенолов, различных аминов, производных ароматических соединений с конденсированными ядрами, некоторых ароматических гидразидов и т. д. К этому же типу относятся химические превращения, лежащие в основе биолюминесценции.

Несмотря на большой интерес, который издавна (уже начиная с Бойля — XVII в.) исследователи уделяли хемилюминесцентным реакциям, механизм этих реакций до сих пор не может считаться окончательно выясненным. За последние десятилетия интерес к хемилюминесценции возрос в связи с открытием таких хемилюминесцентных реакций, которые отличаются исключительно большой яркостью, а также в связи с успехами, достигнутыми в работах по выделению люциферина и люциферазы — соединений, обуславливающих биолюминесценцию.

Особое внимание исследователи уделяли реакции окисления гидразида 3-аминофталевой кислоты, соединения, на хемилюминесценцию которого впервые обратил внимание Альбрехт (1928 г.). Если к щелочному раствору этого гидразида прибавить окислитель — перекись водорода, то разгорается яркое свечение голубого цвета; в присутствии катализаторов свечение существенно усиливается и становится настолько ярким, что его можно использовать как источник освещения. Роль катализаторов играют различные соединения: гемин крови, железосинеродистый калий, медь и т. д. Раствор гидразида, так называемый «люминол», готовят по следующей рецептуре [1]: 200 мг гидразида 3-аминофталевой кислоты растворяют в 20 мл 5%-ного раствора едкого натра и полученный раствор по мере надобности разбавляют стократным количеством воды.

2. Хемилюминесцентные аналитические реакции

Яркая люминесценция, разгорающаяся в присутствии минимальных количеств перекиси водорода, побудила биохимиков использовать описываемую хемилюминесцентную реакцию для обнаружения следов перекиси водорода в биологических объектах. Соответствующая реакция была разработана Лангебеком и Руге [2]. Реактив на перекись водорода они готовят по следующей прописи: 100 мг гидразида 3-аминофталевой кислоты растворяют в 100 мл 1%-ного раствора соды (Na_2CO_3) с добавлением 2 мг хлоргемина. Открываемый минимум перекиси водорода эти авторы оценивают в 0,0012 γ. Шалес [3] в статье, посвященной методам обнаружения перекиси водорода при ее образовании в реакциях дегидрирования, подтверждает колоссальную чувствительность описываемой хемилюминесцентной реакции, а равным образом ее пригодность для указанной цели. Поскольку образующаяся в живом организме перекись водорода все время разлагается под влиянием катализаторов и восстановителей, она не может аккумулироваться в организме, и поэтому реакция, позволяющая обнаруживать столь ничтожные следы этого промежуточного продукта, представляет для биохимика существенный интерес.

Хемилюминесцентная реакция на перекись водорода была использована с большим успехом в текстильном деле [4]: ткани из ацетатного шелка, на которых наведен мат двуокисью титана, оказывались непрочными, причина этого оставалась непонятной; реакция с «люминолом» позволила обнаружить образование перекиси водорода, ею и обусловливается разрушение волокна. Текстильщики, поняв причину порчи шелка, сумели ее устранить.

Как выше указывалось, интенсивность свечения при хемилюминесцентной реакции окисления циклического гидразида 3-аминофталевой кислоты существенно зависит от присутствия катализаторов. Поэтому представляется возможным использовать данную реакцию не только для открытия окислителя — перекиси водорода, но и для обнаружения катализаторов, в частности гемина.

Эту возможность использовал Шпехт [5]. Он разработал метод обнаружения следов крови в судебно-химической практике: подозреваемое место опрыскивают раствором гидразида 3-аминофталевой кислоты в разбавленном водном растворе перекиси натрия, точнее, в содовом растворе, содержащем перекись водорода; в присутствии пятен крови разгорается яркое свечение. В работе Шпехта приведены фотографии ступенек дома, на которых видны пятна крови четырнадцатидневной давности. Снимки сделаны ночью, в свете хемилюминесценции. Как указывает Шалес [3], недостатком этого интересного метода является малая специфичность самой реакции, поскольку и другие вещества, например медь, могут влиять на нее каталитически и вызывать разгорание люминол-реакента. Тем не менее, судя по литературным высказываниям, практическая полезность этого метода бесспорна.

Эта же реакция была применена Штейгманом [6] для обнаружения следов меди в желатинофотографической бумаге.

Из других хемилюминесцентных реакций остановимся на реакции, предложенной для обнаружения следов веществ, в состав которых входит сера [7].

Реакция заключается в том, что анализируемое вещество помещают в пробирку, где имеет место энергичное выделение водорода в результате взаимодействия металлического цинка с 20%-ной соляной кислотой. Как в пробе Марша на мышьяк, и в этом случае происходит восстановление серы водородом в момент выделения. При горении водорода, выделяющегося через газоотводную трубку с оттянутым кончиком, в центральной части пламени заметна синяя окраска в том случае, если анализируемое вещество содержит серу. При очень малых количествах серы направляют пламя на белую фарфоровую поверхность, например на фарфоровую чашечку; тотчас обнаруживается синий светящийся кружок. Наблюдения рекомендуются вести в темноте. Автор указывает на высокую чувствительность этой реакции; например, она позволяет обнаруживать 0,1γ тиофена; содержание сульфата в одной капле водопроводной воды (0,1γ SO₄) является достаточным для достоверного открытия в ней серы. По утверждению автора, на реакцию мало влияют всякого рода примеси. Мешающими являются селен, в меньшей мере — теллур; олово дает эффект, аналогичный сере, но несколько иного цвета. Мышьяк и сурьма служат помехой при малом содержании серы, так как выделяющиеся в пламени частицы металла делают незаметным свечение серы в нем; к этому же сводится вредное влияние бензола и других углеводородов, дающих коптящее пламя. Автор детально в специальной установке изучал механизм процесса, вызывающего свечение, и пришел к выводу, что высвечиваются

молекулы серы, возбуждаемые за счет энергии рекомбинации атомов водорода и серы.

В литературе последних лет имеются указания на попытки использовать хемилюминесценцию для обнаружения боевых отравляющих веществ (см. гл. XII, стр. 210).

При оценке возможностей использовать хемилюминесцентные реакции как реакции аналитические, следует иметь в виду следующее. От этих реакций нельзя ожидать большой чувствительности, если хемилюминесцентное свечение недостаточно интенсивно. Между тем, как выше указывалось, только в немногих случаях разгорается яркое свечение, типичное для найденных за последние десятилетия реакций окисления циклических гидразидов, в частности упомянутого выше гидразида 3-аминофталевой кислоты, и реакций окисления соли *N,N'*-диметилбиакридила и лофина. Хотя первая из них и применена весьма успешно для обнаружения окислителя — перекиси водорода и катализаторов — гемина и меди, однако возможности ее использования для открытия других окислителей и катализаторов ограничены неизбежно малой ее специфичностью*). Надо думать, что отыскание новых аналитических хемилюминесцентных реакций, которые совмещали бы свойства специфичности и чувствительности, представит трудности.

3. Хемилюминесцентные индикаторы

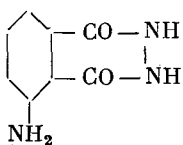
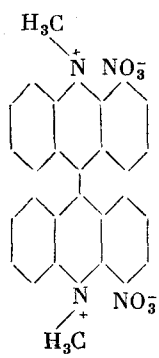
За последнее десятилетие хемилюминесцентные вещества начинают широко использовать как индикаторы. Как и флуоресцентные индикаторы (см. гл. VIII), они полезны при титровании окрашенных и мутных сред; их преимущество по сравнению с флуоресцентными индикаторами заключается в том, что нет необходимости прибегать к освещению ультрафиолетовым светом и использовать специальную аппаратуру. Применение хемилюминесцирующих веществ как индикаторов основано на том, что хемилюминесцентная реакция, а следовательно, и свечение начинаются только при определенных условиях (определенном окислительно-восстановительном потенциале и определенном значении pH). Если условия начала (или конца) хемилюминесцентной реакции соответствуют условиям окончания реакции титрования, то разгорание (или затухание) индикатора указывает на конец титрования.

В литературе описан ряд хемилюминесцентных индикаторов, из них нашли применение в аналитической практике четыре: люминол, люцигенин, лофин и силоксен. Три первых из них выпускаются нашей промышленностью.

Если эти индикаторы применяют для определения конца реакций окисления — восстановления, то к исследуемому раствору восстановителя [например, иона $(AsO_3)^{3-}$] добавляют хемилюминесцентный индикатор и в темноте титруют раствором окислителя (например, перекисью водорода). В точке эквивалентности возникает яркое свечение, обусловливаемое началом окисления индикатора и указывающее на конец титрования. Возникновение свечения устанавливают визуально при работе в темной комнате. В других случаях, пользуясь фотоэлементом с чувствительным гальванометром, проводят титрование в специальном темном ящике (камере).

*) В работе [8] указано большое число катионов, которые авторы считают катализаторами реакции.

Таблица 11

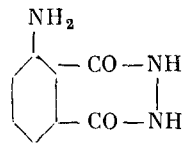
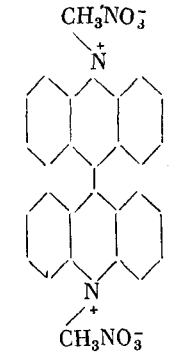
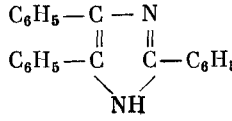
Хемилюминесцентный индикатор		Титруемые ионы	Добавляемый титрованный раствор и его нормальность	Раствор индикатора		Литература
название	формула			концентрация	объем в мл на 100 мл рабочего раствора	
Люминол		AsO_3^{3-} , SbO_3^{3-} , SO_3^{2-} , S^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, CN^- , CNS^-	NaBrO 0,01	0,01	3	[10]
Люминол		ClO^- , BrO^-	AsO_3^{3-} 0,1	0,01	3	[11]
Люминол		AsO_3^{3-} , SbO_3^{3-} , N_2H_4	NaClO 0,1	0,01	10	[12]
Люцигенин		$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$, AsO_3^{3-} , ClO^- , BrO^- , JO^-	H_2O_2 0,1	0,5	1	[13]
		ClO^- , BrO^-	N_2H_4	0,5	1	[14]
Силоксен	$(\text{Si}_6\text{H}_6\text{O}_3)_n$	Fe^{2+}	$\text{Ce}(\text{SO}_4)_2$	тверд. индикатор	0,02 мг	[15]

При обратном титровании, т. е. определении окислителя, добавляют хемилюминесцентный индикатор к титрованному раствору восстановителя. Титрование в этом случае ведут до прекращения появления вспышки при добавлении к раствору окислителя капли титрованного раствора восстановителя. Этот способ титрования менее удобен. В таблице 11 приведены описанные в литературе случаи использования хемилюминесцентных индикаторов при окислительно-восстановительных реакциях.

Описано применение индикатора силоксена при реакции осаждения, а именно осаждения свинца хроматом калия. Избыток хромата окисляет силоксен и возникает свечение, которое и указывает на конец титрования [9].

Ввиду того, что хемилюминесцентная реакция протекает, как указано выше, только при определенном значении pH, хемилюминесцентные индикаторы можно применять и для определения конечных точек реакций нейтрализации. Для этого к титруемой кислоте добавляют индикатор, окислитель (обычно перекись водорода) и в случае люминола и лофина

Таблица 12

Хемиллюминесцентный индикатор		Добавляемые растворы						рН возникновения свечения	Литература
название	формула	Индикатор		Перекись водорода		Красная кровяная соль			
		концентрация в %	объем	концентрация в %	объем	концентрация в %	объем		
Люминол		0,001	6 капель на 10 мл	0,1	3 капли	5	4 капли	8,0—8,5	[16]
Люцигенин		0,5	5—10 капель на 1 мл	5	1 капля			9,0—10,0	[17]
Люфин		0,4	1 мл на 100 мл	3	5 мл	5	1 мл	В интервале перехода фенолфталеина	[18]

катализатор (красную кровяную соль, гемин крови) и титруют раствором щелочи. В процессе титрования изменяется рН раствора; начало хемиллюминесцентной реакции и свечения указывает, что достигнуто рН, соответствующее концу титрования.

Данные по применению хемиллюминесцентных индикаторов для реакций нейтрализации приведены в таблице 12.

Использование хемиллюминесцентных индикаторов обеспечивает необходимую точность работы лишь при соблюдении постоянных температурных условий, так как на течение хемиллюминесцентных реакций сильно влияет температура [19].

Кроме того, при реакциях нейтрализации для получения яркого свечения необходимо точно соблюдать указанные соотношения количеств окислителя и катализатора [20].

В заключение отметим, что за последние десятилетия стало известно большое число реакций, сопровождающихся излучением невидимых ультрафиолетовых лучей. Таковы, например, реакции взаимодействия кислот со щелочами, а равным образом и многие реакции окисления.

Исключительный интерес вызвало обнаружение коротковолнового хемиллюминесцентного излучения, сопровождающего метаболические процессы в живом организме, — это так называемые митогенетические лучи, детально изучавшиеся Гурвичем [21] и его школой. Первоначально удавалось обнаруживать митогенетические лучи только при помощи биологических детекторов — корешков лука, дрожжей, бактерий: живые клетки способны реагировать на минимальные интенсивности этого излучения и таким образом биологическое действие последнего, так называемый «митогенетический эффект», становится отчетливо заметным.

За последние годы стало возможным обнаружение митогенетического излучения и физическими методами. По-видимому, хемиллюминесценция играет немаловажную роль во всех биологических процессах, и выяснение этого круга вопросов имеет принципиальное значение. В [22] приведены статьи, знакомящие с явлением хемиллюминесценции.

ЛИТЕРАТУРА к гл. IX

1. E. W. Flosdorf, L. A. Chambers, W. Malesoff, J. Am. Chem. Soc. 58, 1060 (1936).
2. Lagenbeck, R. Ruge, Ber. dtsh. Chem. Ges. 70, 367 (1937).
3. O. Schales, Ber. dtsh. Chem. Ges. 71, 447 (1938).
4. K. Pflaumer, Chem. Berichte, Festschrift, 587 (1942).
5. W. Specht, Ang. Chem. 50, 155 (1937).
6. A. Steigmann, Photogr. Ind. 35, 1365 (1937) (по Свешникову Б. Я., Изв. АН СССР, сер. физич. IX, № 4—5, 350 (1945)).
7. E. Schrüfer, Zs. Phys. Chem. Abt. B 40, 450 (1938); Mikrochemie 22, 338 (1937).
8. А. Ф. Самсонок, Записки науч. студ. об-ва. Львовский торгово-экономический институт, вып. 1, 52 (1957).
9. F. Kenny, R. Kurtz, Anal. Chem. 25, 1550 (1953).
10. L. Erdey, J. Buzás, Acta chim. Acad. sci. Hung. 6, 93 (1955).
11. L. Erdey, J. Buzás, Acta chim. Acad. sci. Hung. 6, 123 (1955).
12. L. Erdey, J. Buzás, Acta chim. Acad. sci. Hung. 6, 115 (1955).
13. L. Erdey, J. Buzás, Acta chim. Acad. sci. Hung. 6, 77 (1955).
14. L. Erdey, J. Buzás, Acta chim. Acad. sci. Hung. 6, 127 (1955).
15. F. Kenny, R. Kurtz, Analyt. Chem. 22, 693 (1950).
16. F. Kenny, R. Kurtz, Analyt. Chem. 23, 339 (1951); F. Kenny, R. Kurtz, Analyt. Chem. 24, 1218 (1952); А. Пономаренко, Н. Макарьян, А. Комлев, ДАН СССР 86, 115 (1952).

17. L. Erdey, Acta chim. Acad. sci. Hung. 3, 81 (1953); РЖ Хим. № 4, 1926 (1954); R. Parizek, L. Mouska, Chem. Listy 48, 626 (1954).
 18. L. Erdey, J. Vizás, Anal. Chem. Acta 15, 322 (1956).
 19. А. Пономаренко, ДАН СССР 102, 539 (1955).
 20. А. Пономаренко, Н. Макарьян, А. Ромлев, ДАН СССР 89, 1061 (1953).
 21. А. Г. Гурвич, Изв. АН СССР, сер. физич. 9, № 4—5, 335 (1945). Физико-химические основы митогенетического излучения; А. Гурвич и Л. Гурвич, Митогенетическое излучение. Физико-химические основы и приложения в медицине и биологии. М., Медгиз, 1945.
 22. Б. Я. Свешников, Изв. АН СССР, сер. физич. 9, № 4—5, 340 (1945); K. Ridel, Nature 123, 417 (1929). Обзорный доклад с большим числом примеров хемилюминесцентных реакций; W. G. Leedy, J. Chem. Education 21, 142 (1944). Феномен хемилюминесценции.
-

ГЛАВА X

ПРИМЕНЕНИЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫХ ВЕЩЕСТВ ДЛЯ РЕГИСТРАЦИИ ЯДЕРНЫХ ИЗЛУЧЕНИЙ

1. Возбуждение люминесценции жесткой радиацией

Наблюдение вспышек (сцинтилляций) в сернистом цинке при ударе α -частиц, испускаемых радиоактивными веществами, было первым методом регистрации отдельных ядерных частиц. Эти наблюдения производились визуально с помощью только лупы или микроскопа. Современные фотоэлектронные умножители дают возможность регистрировать сцинтилляции под действием не только α -частиц, но и других излучений: протонов, быстрых электронов и γ -лучей. Начиная с 1947 г. этот метод быстро развивался и нашел широкую область применения не только в ядерной физике, но и во многих отраслях техники. Здесь мы дадим только очень краткие сведения по данному кругу вопросов, отсылая интересующихся к специальной литературе.

Возбуждение люминесценции под действием частиц (радиолюминесценция) по своему механизму сильно отличается от возбуждения светом. Еще далеко не все детали этого механизма выяснены. Несомненно, что переход кинетической энергии частицы в энергию люминесценции включает ряд промежуточных и побочных процессов. Во всех случаях существенную роль в возбуждении люминесценции играют вторичные электроны, которые выбиваются из молекул вещества под действием первичной частицы. Если первичная частица заряжена (электрон, протон, α -частица), то возбуждение может быть обусловлено как непосредственным ее действием на молекулы люминофора, так и действием вторичных электронов. Если частица не заряжена (γ -кванты, нейтроны), то возникновение люминесценции обуславливается промежуточными процессами. В случае γ -лучей (а также рентгеновских лучей) люминесценция возбуждается электронами, которые вырываются из атомов вещества при поглощении γ -квантов (фотоэффект) или их рассеянии (комpton-эффект). В случае нейтронов люминесценция вызывается или выбитыми из ядер атомов протонами, или α -частицами, получившимися в результате ядерных реакций.

В связи со сложностью процессов возбуждения и вытекающей отсюда возможностью дополнительных потерь энергии энергетический выход радиолюминесценции значительно ниже, чем фотолюминесценции. По-видимому, в самых благоприятных случаях энергетический выход для неорганических люминофоров не превышает 25%, а для органических 5%. Необходимо подчеркнуть, что для тех люминесцирующих веществ, у которых люминесценция обусловлена отдельными «центрами люминесценции», а не всей массой вещества (активированные кристаллофосфоры, рас-

творы), для получения заметного выхода необходимо существование эффективного механизма переноса энергии от основного вещества к центрам люминесценции. Действительно, поглощение энергии частицы происходит неселективно, и при обычных концентрациях (например, порядка 10^{-3}) подавляющая часть энергии поглощается в основном веществе (например, в растворителе) и только очень небольшая (около 0,1%) — непосредственно центрами люминесценции. Поэтому в тех случаях, когда передача энергии от растворителя к растворенному веществу отсутствует, выход радиолюминесценции очень мал.

Требования, которые предъявляются к люминесцирующим веществам, предназначенным для регистрации ядерных излучений, весьма разнообразны. В одних случаях требуется высокий выход свечения, в других основное требование — кратковременность сцинтилляций, в третьих, когда применяются очень большие объемы люминесцирующих веществ (литры и даже десятки литров), — предъявляются высокие требования к прозрачности вещества для его собственной люминесценции. В некоторых случаях требуется, чтобы в состав вещества сцинтиллятора входили атомы с большими атомными номерами. Ниже мы даем очень краткий перечень основных типов люминесцирующих веществ, применяемых для наблюдения радиолюминесценции («сцинтилляторов»), с указанием их основных свойств.

2. Кристаллофосфоры на основе ZnS

Сернистый цинк, активированный медью (ZnS-Cu), был классическим люминофором, служившим для визуального наблюдения сцинтилляций под действием α -частиц. В настоящее время применяется главным образом ZnS-Ag, обладающий синим свечением, более подходящим к спектральной чувствительности обычных фотоумножителей с сурьмяно-цезиевым фотокатодом (см. гл. VII). Этот люминофор представляет собой порошок и применяется в виде тонких слоев для регистрации главным образом α - и других сильно ионизирующих частиц. Для регистрации проникающих (например γ -) лучей, где требуются толстые слои, применение таких порошкообразных поликристаллических люминофоров неэффективно вследствие рассеяния света в толстом слое люминофора. В смеси с V_2O_5 люминофор ZnS-Ag используется для регистрации медленных нейтронов. При этом нейтроны захватываются бором, а получившаяся в результате ядерной реакции α -частица вызывает сцинтилляцию в ZnS-Ag.

Энергетический выход радиолюминесценции ZnS-Cu и ZnS-Ag очень высок (по некоторым данным не менее 25%). Сцинтилляции от α -частиц в ZnS-Ag затухают по неэкспоненциальному закону и имеют длительность порядка 10^{-6} сек.

3. Щелочно-галогидные кристаллы

Применяются главным образом йодиды (NaJ, KJ и CsJ), активированные таллием ($\sim 0,1$ мол. %), в виде прозрачных монокристаллов. Эти кристаллы благодаря большой плотности и высокому выходу люминесценции являются наиболее эффективными сцинтилляторами для регистрации γ -лучей. Они дают возможность не только считать число поглощенных частиц, но и определять их энергию или энергетический спектр (сцинтилляционная γ - и β -спектрометрия). Если на кристалл подают частицы

(например, электроны) одинаковой энергии, то яркость сцинтилляций оказывается также приблизительно одинаковой. Однако из-за неизбежных флуктуаций и других причин величина сцинтилляций и соответствующая величина импульсов, получаемых от фотоумножителя, колеблется около некоторого значения. Этот разброс или полуширина *) кривой распределения импульсов по величине тем меньше, чем ярче каждая сцинтилляция и чем однороднее кристалл. Отношение полуширины кривой распределения к величине импульса, соответствующего ее максимуму («разрешающая способность» по энергии), характеризует спектрметрические качества сцинтилляционного счетчика.

Длительность сцинтилляций (закон затухания экспоненциальный) в NaJ-Tl — $3 \cdot 10^{-7}$ сек, KJ-Tl — $3 \cdot 10^{-7}$ сек и CsJ-Tl — $1 \cdot 10^{-6}$ сек. В первых двух случаях τ сильно зависит от температуры.

Недостатком кристаллов KJ является довольно значительная фосфоресценция (а также мешающее собственное излучение K^{40}), но они менее гигроскопичны, чем кристаллы NaJ , которые требуют очень тщательной защиты от влаги. Кристаллы CsJ-Tl обладают более длинноволновым спектром излучения (максимум около 550 мк), чем NaJ-Tl (415 мк) и KJ-Tl (420 мк).

4. Органические кристаллы

Люминесцирующие органические кристаллы в качестве сцинтилляторов применяются в виде монокристаллов, выращенных из расплава. Лучшими кристаллами-сцинтилляторами являются антрацен, стильбен (транс-дифенилэтилен), толан (дифенилацетилен). Применяется также нафталин с небольшой примесью антрацена; он значительно легче, чем антрацен, выращивается в виде очень крупных прозрачных монокристаллов.

Главное достоинство органических сцинтилляторов — очень короткая длительность вспышки, имеющая величину порядка 10^{-8} сек. Поэтому они используются в сцинтилляционных счетчиках в тех случаях, когда необходима большая разрешающая способность по времени. Недостатком органических кристаллов является то, что яркость сцинтилляций в них не пропорциональна энергии частиц. Отступления от пропорциональности наблюдаются главным образом при малых энергиях и при большой ионизирующей способности. Так, например, выход люминесценции под действием α -частиц оказывается в 10 раз меньшим, чем под действием быстрых электронов (т. е. так называемое α/β -отношение равно 0,1). Причина этого явления до сих пор не вполне выяснена.

5. Жидкие растворы органических веществ

В качестве растворителей используются ксилол, толуол, фенилциклогексан и другие ароматические растворители. В качестве люминесцирующих веществ — паратерфенил, 2,5-дифенилоксазол и некоторые другие. Обычная концентрация этих веществ — около 5 г/л. Кроме основного люминесцирующего вещества иногда в раствор добавляют небольшое количество другого вещества со спектром люминесценции, смещенным в длин-

*) Аналогично тому, как это принято для спектральных кривых, и здесь под полушириной подразумевается разность двух значений энергий на оси абсцисс, для которых величина импульса в два раза меньше наибольшей, характерной для энергии данных частиц.

новолновую сторону по отношению к спектру основного вещества («смесители спектра»). Благодаря эффективной передаче энергии от растворителя к люминесцирующему веществу (и от него к добавке, если она введена) спектр излучения характерен для растворенного вещества (или для добавки). Целесообразность введения «смесителей» обусловливается требованием соответствия спектра люминесценции спектральной чувствительности фотоумножителя. Поэтому имеющиеся в иностранной литературе указания на эффективность действия добавок иногда оказываются несправедливыми по отношению к отечественным фотоумножителям.

Свойства растворов органических веществ, как сцинтилляторов, аналогичны органическим кристаллам. Преимущество растворов заключается в возможности легко получать сцинтилляторы очень больших объемов с хорошей прозрачностью.

6. Пластмассовые сцинтилляторы

Сцинтиллирующие пластмассы готовятся главным образом на основе полистирола или поливинилтолуола. В качестве основных люминесцирующих добавок применяется паратерфенил, 2,5-дифенилоксазол, 1, 1', 4, 4'-тетрафенилбутадие-1,3 и многие другие. В пластических сцинтилляторах также широко применяются дополнительные добавки — «смесители спектра». В качестве таких добавок в комбинации с паратерфенилом используются кватерфенил, тетрафенилбутадие-1,3 и также производные дифенилоксазола (см. приложение II). Выход радиолюминесценции лучших пластмассовых сцинтилляторов приближается к выходу для органических кристаллов, например стильбена или толана, и составляет более 50% от выхода кристалла антрацена. По своим сцинтилляционным свойствам пластические сцинтилляторы аналогичны другим органическим веществам. Они имеют короткую длительность сцинтилляций (в некоторых случаях менее 10^{-8} сек) и малое α/β отношение (порядка 0,1). Преимущество пластмасс заключается в возможности получения больших прозрачных блоков, легко поддающихся обработке, устойчивых и удобных в обращении.

ЛИТЕРАТУРА к гл. X

1. Дж. Биркс, Сцинтилляционные счетчики, ИЛ, М., 1955.
2. F. D. Brooks, Organic Scintillators, Progr. Nucl. Phys., Vol. 5, London, 1956.
3. R. K. Swanik, Ann. Rev. Nucl. Sci. 4, 111 (1954); УФН 58, 519 (1956) (обзор).
4. М. Д. Галанин, Изв. АН СССР, сер. физич. 20, 392 (1956). Краткий обзор по радиолюминесценции органических веществ.
5. И. М. Розман, Изв. АН СССР, сер. физич. 22, 36, 67 (1958). Пластмассовые сцинтилляторы.
6. Проблемы современной физики. Люминесценция (реферативные сборники), Москва, 1950—1956.

ГЛАВА XI

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В ЛЮМИНЕСЦЕНТНОМ АНАЛИЗЕ КАТОДОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ, РЕНТГЕНОЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ И РЕНТГЕНОВСКОЙ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ

В люминесцентном анализе исторически установилось возбуждать свечение исследуемых образцов преимущественно длинноволновым ультрафиолетовым светом (ртутная лампа с соответствующим светофильтром). Этому способствовали простота работы с такими источниками возбуждения и их сравнительная доступность. Существует, однако, большое число прозрачных для длинноволнового ультрафиолетового излучения веществ, которые этого света не поглощают и соответственно им не возбуждаются. Для возбуждения таких веществ приходится прибегать к более сильно поглощаемому коротковолновому ультрафиолетовому свету, к рентгеновским лучам или к более мощному электронному (катодному) возбуждению. Это значительно расширяет диапазон поддающихся исследованию люминесцентным анализом материалов. Одновременно оказывается возможным использовать некоторые специфические особенности каждого из источников возбуждения, выгодные для аналитических целей. Для рентгеновских лучей характерна, например, большая глубина их проникновения в исследуемый материал; для катодных — недостижимая в фотолюминесценции высокая мощность возбуждения и лёгкость ее регулировки; для рентгеновской флуоресценции — значительно меньшая зависимость спектрального состава излучения от вида и силы химической связи атомов в исследуемом материале.

1. Катодолюминесценция *)

В катодолюминесценции свечение возникает за счет энергии бомбардирующего образец быстрых (первичных) электронов. Источники возбуждения и приемы работы с ними описаны в гл. VII. Несмотря на широкое использование катодолюминесценции в технике, механизм ее возбуждения в деталях еще не изучен. В частности, недостаточно ясен механизм размена энергии первичного электрона в бомбардируемом материале и последующего поглощения этой энергии атомами. Схематически процесс может быть представлен следующим образом. Быстрый первичный электрон при торможении в исследуемом материале теряет свою энергию ступенчато за счет многократных столкновений с атомами. При этом на пути первичного электрона образуется большое число более медленных (с энер-

*) Катодолюминесценции и ее использованию в электронно-лучевых трубках посвящена книга: А. В. Москвитин, Катодолюминесценция, ч. I. Общие свойства явления, Гостехиздат, М.—Л., 1948. (Прим. ред.)

гий около 30 эв) вторичных электронов. Энергия последних и идет на возбуждение образца. Аналогичная передача энергии через вторичные электроны имеет место и при возбуждении очень коротковолновым ультрафиолетовым светом и рентгеновскими лучами.

В случае катодолюминесценции подсчет показывает, что вторичными электронами непосредственно возбуждается не более 1% участвующих в свечении люминесцентных центров. Предполагается, что к остальным центрам энергия возбуждения от мест фактической рекомбинации вторичных электронов переносится по кристаллической решетке, по-видимому, за счет резонансных процессов. Несмотря на высокие стоковские потери (см. гл. II) и неизбежное рассеяние энергии при транспортировке, энергетический выход катодолюминесценции все же может быть относительно высоким. В несовершенных кристаллах он обыкновенно не превышает долей процента; в стеклах практически падает до нуля, но в хорошо образованных кристаллах с малым рассеянием энергии при переносе выход может достигать десяти и более процентов.

Приведенная выше картина размена энергии недостаточно полна. При бомбардировке образца часть вторичных электронов вырывается с его поверхности и таким образом непосредственно не участвует в процессах возбуждения. Однако роль этих электронов в общем процессе возбуждения весьма существенна; в условиях хорошего вакуума без их участия стабильное наблюдение катодолюминесценции вообще невозможно. При малых энергиях первичных электронов (ускоряющее напряжение меньше 100—120 эв) число вторичных электронов, вылетающих с поверхности, меньше числа первичных. Бомбардируемая поверхность образца-диэлектрика беспрепятственно заряжается отрицательно. Накопившийся заряд начинает отталкивать электроны первичного пучка, и появившееся вначале свечение быстро гаснет. При увеличении энергии бомбардирующего пучка (увеличении ускоряющего напряжения) число вторичных электронов становится равным или большим числа первичных. Эти электроны отсасываются ускоряющим положительным электродом, и теперь поверхность получает тенденцию заряжаться положительно, устойчиво стремясь к потенциалу электрода, ускоряющего первичный пучок. Избыточные вторичные электроны будут при этом возвращаться назад и стабилизировать заряд поверхности. В условиях автоматически устанавливающегося динамического равновесия между первичными электронами и вырывающимися вторичными становится возможным стабильное наблюдение катодолюминесценции. При этом число фактически бомбардирующих образцов электронов пропорционально плотности тока пучка, а их энергия достаточно точно определяется потенциалом ускоряющего электрода.

Такой автоматически действующий механизм выравнивания потенциала продолжает функционировать, пока ускоряющее напряжение первичного пучка не станет слишком высоким. В последнем случае образование вторичных электронов происходит уже на большой глубине, и они теряют способность достигать поверхности. Число их снова становится меньше числа первичных. На поверхности начинает накапливаться отрицательный заряд, который тормозит электроны первичного пучка. Энергия последних падает, и на кривой роста яркости свечения с ускоряющим напряжением обнаруживается тенденция к насыщению. Для разных материалов это явление наступает при разных ускоряющих напряжениях, обыкновенно в пределах 8—15 кэв; для борьбы с ним приходится прибегать к специальным мерам, например к металлизации поверхности для стекания с нее заряда.

Тормозящий катодолюминесценцию отрицательный заряд поверхности и отставание ее потенциала от потенциала ускоряющего электрода имеют место, конечно, только в условиях высокого вакуума, в специальных электронно-лучевых трубках. При работе с примитивными приборами [4—5], типа описанных в гл. VII, заряд поверхности автоматически снимается ионами, образующимися при ионизации остатков воздуха. Однако электронное возбуждение при этом осложняется вторичными эффектами: добавочным возбуждением от ультрафиолетового излучения газового разряда и от ионной бомбардировки образца (анодолюминесценции). Для качественного анализа эти осложнения не играют существенной роли. Однако если катодолюминесценцию используют для количественного анализа, то необходимо учитывать, что явления, наблюдаемые при анализе, могут оказаться сложнее обусловливаемых чисто электронным возбуждением.

2. Применение катодолюминесценции в люминесцентном анализе

а) *Аппаратура.* Для наблюдения катодолюминесценции, уже не осложненной вторичными эффектами, применяются приборы, использующие высокий вакуум.

На рис. 50 и 51 даны схемы двух типов разборных электронно-лучевых трубок, успешно используемых для наблюдения катодолюминесценции в ряде исследовательских лабораторий. В одной из них (рис. 50), относящейся к числу цельнометаллических вакуумных конструкций, исследуемые образцы (A_1, A_2, \dots) вместе с эталонами располагаются в углублениях по окружности металлического диска D . Вращением последнего извне, без нарушения вакуума, образцы последовательно подводятся под электронный пучок. Во втором типе (рис. 51), легко выполняемом в виде стеклянной трубки со шлифами [6], образцы подводятся под пучок движением несущих салазков C при помощи магнитной катушки M и железной массы $Ж$. В обеих конструкциях электронный пучок создается «электронной пушкой» K по типу используемых в обычных электронно-лучевых трубках, но дающей равномерно расходящийся пучок. Ось пучка наклонена к поверхности образца под углом около 30° ; катодолюминесценция наблюдается через специальные смотровые окошки O . Во избежание засветки образца накаленной нитью катода последний делается оксидным (работающим при низкой температуре) или в форме петли, излучение которой экранируется от образца диафрагмой Венельта B . Минус высокого ускоряющего напряжения присоединен к катоду. В первой кон-

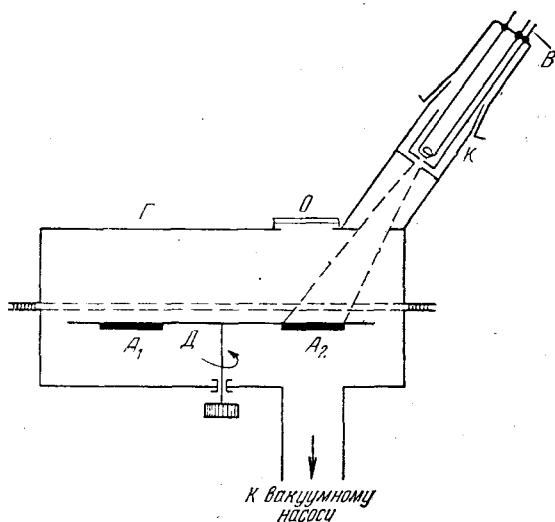


Рис. 50. Цельнометаллическая разборная катодная трубка.

Во избежание засветки образца накаленной нитью катода последний делается оксидным (работающим при низкой температуре) или в форме петли, излучение которой экранируется от образца диафрагмой Венельта B . Минус высокого ускоряющего напряжения присоединен к катоду. В первой кон-

струкции собирающим вторичные электроны анодом служат диск D и металлический корпус прибора Γ ; во второй — салазки C и металлический слой E , покрывающий изнутри стенки трубки. Энергия бомбардирующих электронов (ускоряющее напряжение) измеряется электростатическим вольтметром $\mathcal{E}B$, а ток — микроамперметром.

При наличии достаточно хорошего вакуума (не меньше 10^{-3} мм рт. ст.) нормальные условия возбуждения катодолюминесценции осуществляются

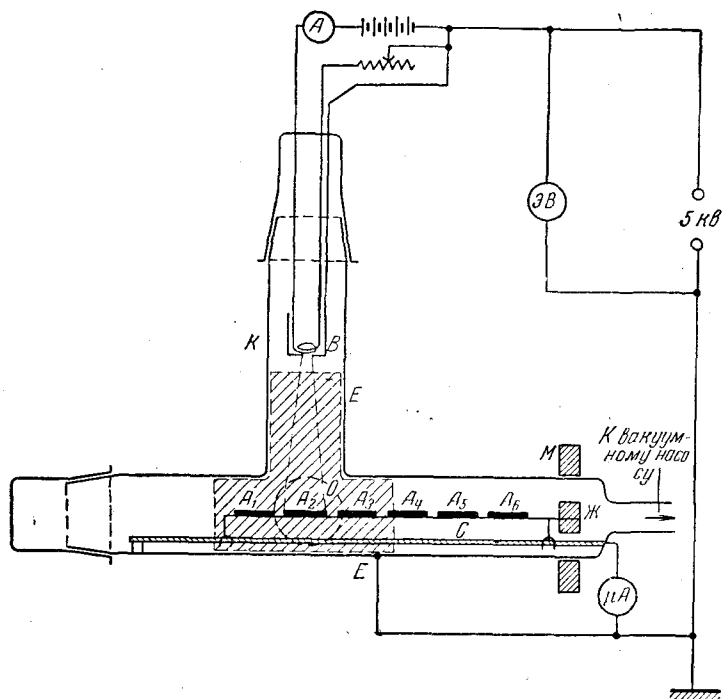


Рис. 51. Стеклопанная разборная катодная трубка.

при ускоряющем напряжении порядка 4—6 кВ и плотности тока пучка не выше 0,1—0,2 мкА/см². При указанной плотности яркость свечения достаточно высока, но еще не происходит разрушение материала от слишком энергичной электронной бомбардировки. С другой стороны, при энергии электронов 4—6 кВ для подавляющего большинства веществ коэффициент вторичной эмиссии больше единицы и число поступающих на образец первичных электронов равно числу улавливаемых анодом вторичных. Яркость свечения в широком диапазоне оказывается строго пропорциональной плотности тока пучка. Зависимость яркости от ускоряющего напряжения несколько сложнее. При малых ускоряющих потенциалах яркость растет медленнее, чем напряжение. В дальнейшем связь между ними приближается к линейной. При дальнейшем возрастании напряжения, когда вторичная эмиссия образца снова становится меньше единицы, появляется тенденция к насыщению.

б) Особенности возбуждения катодным пучком. Использование катодолюминесценции в люминесцентном анализе бесспорно сложнее исследования образцов на воздухе под кварцевой лампой или под коротковолновым излучением искры между металлическими электродами. Однако во многих случаях преимущества катодолюминесценции оказываются на-

столько значительными, что оправдывают трудность работы с вакуумом. Из числа преимуществ электронного возбуждения на первом месте следует поставить его высокую мощность. Один бомбардирующий электрон при ускоряющем напряжении 5 кВ по энергии эквивалентен 1500 квантам ультрафиолетового света с длиной волны 3600 Å. Таким образом, при стандартных условиях возбуждения (5 кВ, 0,2 мкА/см²; 10⁻³ Вт) на единицу поверхности образца подается мощность, приблизительно соответствующая падению в секунду 10¹⁵ квантов света с указанной выше длиной волны. Учитывая малую глубину проникновения электронов в вещество, равную при 5 кВ приблизительно 0,4—0,6 мк, в образце создается огромная объемная плотность возбуждения, практически недостижимая в фотолюминесценции.

Этим объясняется широкое распространение катодолюминесценции. Почти не существует твердых кристаллических соединений, которые не обнаруживали бы хотя и слабого, но уловимого свечения при электронной бомбардировке. Таким образом, анализу может быть подвергнуто почти неограниченное число веществ, обладающих собственным или вызванным примесями свечением. По условиям возбуждения отпадают только жидкости и небольшое число веществ с высокой упругостью паров при комнатной температуре или нестойких под электронной бомбардировкой. В настоящее время, при повышенном интересе к соединениям особо высокой степени чистоты, наблюдение их катодолюминесценции может служить прекрасным способом контроля чистоты синтеза и соответствия препарата его назначению.

Вторым бесспорным преимуществом катодолюминесценции следует считать легкость ее регулировки. Ее можно осуществить изменением плотности тока пучка (накал катода и управление потенциалом цилиндра Венельта) или изменением ускоряющего напряжения (энергии электронов). Последнее не представляет затруднения при наличии регулируемого по напряжению блока питания. Простота и точность регулировки облегчают воспроизводимость условий возбуждения. Они надежно позволяют установить точную количественную связь различных параметров свечения с особенностями его возбуждения. В этом отношении электронное возбуждение имеет неоспоримые преимущества перед его конкурентом в люминесцентном анализе — конденсированной высоковольтной искрой между металлическими электродами.

В люминесцентном анализе, как химическом, так и сортовом, когда пользуются качественной оценкой параметров свечения (яркость, цвет, инерционность), применение катодолюминесценции, подобно фотовозбуждению, ограничено неспецифичностью спектров и чрезмерной чувствительностью свечения к различным примесям и дефектам строения. Преимуществом электронного возбуждения остается только более широкий диапазон исследуемых материалов и возможность за счет повышенной мощности возбуждения наблюдать свечение даже очень слабо люминесцирующих объектов. Из числа последних особенно часто исследуется свечение минералов [7], горных пород, элементов почвенного скелета и разнообразных твердых продуктов химического синтеза. Возможность острой фокусировки электронного луча и легкость управления им позволяют использовать катодолюминесценцию и для количественного подсчета люминесцирующих включений в несветящемся или иначе люминесцирующем материале, например в шлифах горных пород [8]. Непрямым путем это с успехом используется в биологии и медицине в специальных микроскопах с разверткой бегущим лучом [9].

Наиболее рациональной областью использования катодолюминесценции в люминесцентном анализе следует считать, однако: а) изучение качественного и количественного состава твердых неорганических соединений и б) наблюдение протекающих в них физико-химических процессов и особенно кристаллохимических превращений. В первом случае для качественного химического анализа используются вполне специфичные для данного соединения спектры. Количественный анализ обычно ограничивается определением следов различных примесей, яркость свечения которых, как активаторов, закономерно связана с их концентрацией в исследуемом материале. Благодаря характерным линейчатым спектрам особенно выгодно определение таким образом редких земель. Чувствительность обнаружения их достигает 10^{-5} — $10^{-6}\%$ при точности определения 20—40% от определяемой величины. В качестве примера могут служить анализы на редкие земли природных известняков, раковин моллюсков и других известковистых образований [10].

В приемах физико-химического анализа однокомпонентных, бинарных и более сложных твердых систем катодолюминесценция, как аналитический признак, позволяет с высокой чувствительностью обнаруживать большое число явлений. По характерным спектрам активатора, используемого в качестве зонда кристаллической основы фосфора, надежно обнаруживаются полиморфные превращения, реликтовые или переходные структуры, направление хода химических реакций, их последовательность, образование смешанных кристаллов, распад твердых растворов и диффузия отдельных компонентов в многофазных системах. Количественный элемент вводится обычно изучением интенсивности свечения на принципе аддитивности спектров излучения отдельных фаз или закономерного смещения и размытия спектров при образовании смешанных кристаллов. Помимо высокой чувствительности, преимуществами метода являются его быстрота и возможность одновременного наблюдения нескольких продуктов при массовых и чисто локальных превращениях. Общие приемы исследования аналогичны описанным при фотовозбуждении. Специфика механизма возбуждения катодолюминесценции и некоторые сопутствующие ей явления накладывают, однако, свой отпечаток на результаты наблюдений. Эти особенности в некоторых случаях могут быть использованы как дополнительный диагностический признак, в других — они несколько усложняют наблюдения и даже ограничивают область их применения.

Специфика спектров катодолюминесценции обусловлена высокой мощностью возбуждения и особенностями его механизма. Полное тождество спектров фото- и катодолюминесценции наблюдается обычно только в однофазных системах из одного основания и с одним активатором [11]. В сложных основаниях и при наличии нескольких активирующих примесей спектры катодолюминесценции обычно богаче; за счет большой мощности возбуждения в них выступают и полосы примесей, иногда не улавливаемых при фотовозбуждении. С другой стороны, разница в механизмах возбуждения обуславливает и разницу в выходе свечения; в многополосных спектрах, особенно часто встречающихся при исследовании сложных систем, распределение энергии между полосами различно в обоих видах свечения. В частности, в ряде хорошо возбуждаемых светом фосфоров, когда возбуждающее излучение поглощается на центрах активатора или сенсibilизатора*), катодолюминесценция может оказаться

*) Центры, образованные примесью, хорошо поглощающие возбуждающую энергию и с большой эффективностью передающие ее к центрам свечения.

сравнительно слабой. Примером служат многие яркие, так называемые «ламповые», люминофоры. Указанную особенность необходимо учитывать при сопоставлении наблюдений, сделанных при фото- и катодовозбуждении. Разница в спектрах может дать ценные указания на особенности положения активатора в решетке и на его непосредственное окружение.

По причине особенностей передачи энергии возбуждения излучающему центру в катодолюминесценции почти отсутствует явление сенсбилизации, столь широко распространенное в фотолюминофорах. В то же самое время роль коактиваторов, примесей, облегчающих внедрение активатора в решетку, в одинаковой мере существенна при обоих видах возбуждения.

Существенной особенностью электронного возбуждения является малая глубина проникновения бомбардирующих электронов в вещество. В пределах 1—30 μe в первом приближении она пропорциональна четвертой степени их скорости или квадрату ускоряющего напряжения. В спектрах катодолюминесценции преобладают поэтому полосы поверхностных, как правило, наиболее нарушенных зон кристалла. Их роль можно усилить искусственно, работая на низких ускоряющих напряжениях. Это облегчает изучение чисто поверхностных явлений. В кинетике твердофазных реакций удается, например, отчетливо выделить первые этапы процесса, предшествующие началу объемной диффузии и кристаллизации (период перекрывания, образования молекулярных поверхностных пленок и их дезактивации).

Особенности размена энергии бомбардирующих электронов и передачи ее излучающим центрам обуславливают сильную зависимость яркости катодолюминесценции от степени совершенства кристаллической структуры материала. Катодолюминесценция практически отсутствует в стеклах; яркость ее, наоборот, сильно возрастает в процессе растекловывания, что хорошо наблюдается, например, при рекристаллизации активированных марганцем боратных стекол. Эта особенность свечения может быть с успехом использована при изучении диаграмм состояния систем, обнаруживающих тенденцию к образованию стекловатых структур. В системе окись кальция — фосфорный ангидрид яркость фотолюминесценции слабо меняется в окрестности сингулярной точки, отвечающей составу пирофосфата. В случае электронного возбуждения падение яркости так же слабо при изменении состава в сторону хорошо кристаллизующегося ортофосфата. Оно, наоборот, чрезвычайно резко для более кислых, склонных к стеклообразованию составов [12]. В то же самое время сам метафосфат в хорошо закристаллизованной форме обладает достаточно яркой катодолюминесценцией.

Как указано выше, при электронном возбуждении малая глубина проникновения электронов в бомбардируемый материал обуславливает в нем высокую объемную плотность возбуждения. Высокая мощность возбуждения вызывает в бомбардируемом материале ряд вторичных изменений, меняющих спектральный состав излучения и его яркость. Изменение спектрального состава, вызванное процессами восстановления, особенно бросается в глаза при бомбардировке таких соединений, как щелочные и щелочноземельные галоидные соли, в которых в результате бомбардировки электронами возникают так называемые центры окраски. В некоторых случаях изменение спектрального состава свечения может быть даже использовано в диагностических целях. Преобладающая часть вторичных изменений ведет к систематическому падению яркости свечения

и к потемнению материала, известному в технике под терминами утомления и выгорания катодолюминофоров.

Подавляющая доля в падении яркости вызвана разложением материала. Процессы разложения могут быть как обратимыми (утомление), так и необратимыми (выгорание). Эти явления частично изучены при бомбардировке тонких пленок различных материалов медленными электронами. Разложение материала обусловлено обыкновенно освобождением электроотрицательного компонента соединения с выделением его в свободном состоянии. Как показывает опыт, энергия разложения обычно меньше соответствующей теплоты образования. Восстановление совершается в поверхностном слое, вблизи дефектов решетки; оно соответствует переходу электрона от иона галоида в окрестность положительного иона. Разложение пропорционально числу поступающих в материал электронов и мало зависит от их энергии.

При использовании катодолюминесценции в аналитических целях явления обратимого утомления и необратимого выгорания материала под электронной бомбардировкой должны быть учтены подбором соответствующей плотности тока и ускоряющего напряжения.

3. Рентгенолюминесценция

Как уже указывалось выше, в люминесцентном анализе с большим успехом используется также рентгенолюминесценция — видимое свечение образцов при поглощении ими рентгеновского излучения. По механизму возбуждения рентгенолюминесценция, по-видимому, ближе всего стоит к катодолюминесценции. Поглощение кванта рентгеновского излучения с большой энергией вызывает в веществе образование вторичных электронов высоких скоростей, которые в последующем ведут себя аналогично катодным лучам. Квант характеристического излучения вольфрама (K_{α} ; $0,21 \text{ \AA}$; $\approx 60 \text{ кэВ}$) по энергии эквивалентен, например, приблизительно 17 000 квантов ультрафиолетового света с длиной волны 3650 \AA . Мощность возбуждения в рентгенолюминесценции, следовательно, могла бы быть очень высокой. Фактически она ограничена малым коэффициентом поглощения рентгеновских лучей такой короткой длины волны; заметной величины соответствующий коэффициент поглощения достигает только в соединениях тяжелых атомов. Для суммы испускаемых рентгеновской трубкой лучей средняя длина волны приблизительно обратно пропорциональна приложенному к трубке напряжению, а коэффициент их поглощения приблизительно пропорционален кубу длины волны.

Высокая проникаемость рентгеновского излучения обусловила широкое использование его в так называемой рентгенодефектоскопии, связанной с применением люминесцирующих веществ.

Установка для использования рентгенолюминесценции в аналитических целях описана Боровским [13]. Им же разработан и применен метод исследования природных ископаемых по их свечению при облучении рентгеновскими лучами. Рентгенолюминесценция применяется для сортировки и обогащения алмазов (см. гл. XV, стр. 289).

4. Рентгеновская флуоресценция

За последние годы достигнуты хорошие результаты в применении рентгеновской флуоресценции, основанной на регистрации вторичного рентгеновского излучения при возбуждении более жесткими рентгенов-

скими лучами [14]. В качестве иллюстрации чувствительности этого метода могут быть указаны анализы урана в водных растворах при концентрации 0,05 г/л [15], определения свинца и брома в авиационном бензине [16], в жидких углеводородах [17], анализы смесей гафния, циркония, ниобия и тантала [18], а также определения двух последних металлов в их минералах [19, 20].

Рентгеновский флуоресцентный анализ обладает большими преимуществами по сравнению с оптическим эмиссионным и рентгеноспектральными анализами. Ему благоприятствуют простота самих спектров, строго выдержанное отношение интенсивностей спектральных линий в пределах серии, возможность предельно высокой стабилизации условий возбуждения и полная независимость результатов определения от вида и силы химической связи атомов в анализируемых препаратах. Быстрота рентгенофлуоресцентного анализа, требующего для количественного определения 10—20 минут, и возможность полной автоматизации всего аналитического процесса обеспечили этому методу широкое практическое применение в ряде исследовательских лабораторий и на производствах.

Использование рассмотренных выше способов возбуждения люминесценции значительно расширяет область применения люминесцентного анализа, в частности, на те химические исследования, где фотовозбуждение оказывается недостаточно эффективным.

ЛИТЕРАТУРА К ГЛ. XI

1. М. Г. Богословский, П. В. Савицкая, С. Г. Соломкина, Советская геология 8, 99 (1938).
2. Г. Ф. Комовский и Ф. А. Аболенский, Проблемы советской геологии, № 4, 332 (1938).
3. Г. Ф. Комовский, Зав. лабор. 8, 514 (1939).
4. Г. Ф. Комовский и Е. Г. Разумная, Советская геология 8, № 11, 111 (1938).
5. Г. Комовский и Я. Головчинер, Советская геология 10, № 11, 98 (1940).
6. А. В. Москвин, Катодолюминесценция, ч. II, стр. 630, М.—Л., 1949.
7. Г. Ф. Комовский и О. Н. Ложникова, Люминесцентный анализ при изучении руд и минералов, М., 1954.
8. M. Deribéré, Les applications pratiques de la luminescence, Paris, 1955; Bull. Soc. Frans. mircal of crystall agr. 77, 939 (1954).
9. F. Robert, Z. Jung, Electronics 26, № 7, 137 (1953); Nature 169, 963 (1952); 167, 231 (1951); Inst. Electr. Eng. Paper № 1348 (1952).
10. E. Iwase Bull. Chem. Soc. Japan. 28, 347 (1955).
11. А. В. Москвин, Изв. АН СССР, сер. физич. 9, № 4—5, 428 (1945).
12. В. П. Назарова, Материалы VII совещания по люминесценции, Тарту, 1959, стр. 298.
13. И. Б. Боровский, УФН 68, вып. 1, 81 (1959).
14. М. А. Блохин, Зав. лабор. 16, 681, 941 (1950).
15. L. S. Birks, E. J. Brooks, Anal. Chem. 23, 707 (1951).
16. L. S. Birks, E. J. Brooks, H. Friedman, R. M. Roe, Anal. Chem. 22, 1258 (1950).
17. G. T. Kokotailo, G. F. Damon, Anal. Chem. 25, 524 (1953).
18. L. S. Birks, E. J. Brooks, Anal. Chem. 22, 1017 (1950).
19. Ch. E. White, Anal. Chem. 26, 129 (1954).
20. W. J. Campbell, H. F. Carl, Anal. Chem. 26, 800 (1954); 25, 524 (1953).

ГЛАВА XII

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В ХИМИИ

В главе V рассмотрены возможности качественного определения неорганических и органических веществ путем наблюдения их люминесценции непосредственно (прием I) или после проведения определенных реакций (прием II), а также возможности проведения количественных определений (прием III). В настоящей главе читатель найдет описание и качественных и количественных реакций; представляется нецелесообразным давать их отдельно, так как это не внесло бы большей ясности, но неизбежно привело бы к повторениям.

А. ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

1. Прием I

Многие неорганические вещества обладают способностью флуоресцировать и фосфоресцировать в твердом агрегатном состоянии, в растворенном же состоянии флуоресцируют лишь соли редкоземельных элементов и ураниловые соли. Только в отношении этой небольшой группы соединений и можно ставить вопрос об их обнаружении в растворах по люминесценции их ионов.

а) *Редкоземельные элементы (р.з.э.)*. Вследствие сходства внешней электронной оболочки р.з.э. все они имеют близкие химические свойства; до некоторой степени исключение представляет только церий. Различия между остальными элементами носят преимущественно количественный характер, и все 14 р.з.э. размещены в одной клетке периодической системы. Сходством строения внешней электронной оболочки объясняется сравнительно малая изученность элементов этой группы; внимание химиков обращено в первую очередь на изыскание способов их разделения. По своим оптическим свойствам р.з.э. существенно различаются между собой, так как их абсорбция, а равным образом и люминесценция связаны с возбуждением электронной внутренней $4f$ оболочки, которая у них неодинакова; по мере возрастания порядкового номера, т. е. с увеличением заряда ядра от 57 (лантан) до 71 (лютеций), добавляющиеся электроны достраивают именно эту незаполненную внутреннюю оболочку*).

Представляется соблазнительным использование люминесценции р.з.э. для их идентификации [1], тем более, что, как выше указывалось, их ионы, в отличие от ионов других металлов, флуоресцируют и в водных

*) Детальные данные о спектрах поглощения р. з. э. см. в книге: М. А. Е л ь я ш е в и ч, Спектры редких земель, Гостехиздат, М., 1953.

растворах. Было бы, однако, неправильным преувеличивать простоту этого метода и преуменьшать значение мешающих факторов, в первую очередь примесей.

Насколько примеси осложняют картину, видно из следующих данных. Зайдель и Ларионов, работы которых посвящены детальному изучению флуоресценции растворов р.з.э. [1], обнаружили, что присутствие следов азотной кислоты парализует флуоресценцию тербия. Равным образом эти авторы объясняют расхождение своих данных с более ранним описанием спектров флуоресценции р.з.э., опубликованным Штарком и Штейнбингом, наличием примесей. Такова же, по их мнению, причина их разногласия с Мекенже.

Для ионов европия установлено, что они не флуоресцируют в растворе при отсутствии ионов $\text{SO}_4^{\cdot-}$.

Флуоресценцию р.з.э. нельзя наблюдать в обычных для люминесцентного анализа условиях — при возбуждении длинноволновым ультрафиолетовым излучением, так как они поглощают в более далекой ультрафиолетовой области. Для возбуждения свечения растворов р.з.э. надо пользоваться иным источником света, например искрой.

Флуоресценция некоторых из р.з.э. лежит в ультрафиолетовой части спектра; обнаруживать ее удобно методом фотографирования.

Из числа изученных р.з.э., согласно данным Зайделя и Ларионова, тербий, гадолиний и церий флуоресцируют в растворе наиболее интенсивно; в отношении их ионов метод определения р.з.э. по флуоресценции раствора авторы считают наиболее чувствительным; метод менее чувствителен в отношении европия и, из-за малой чувствительности, не представляет существенного интереса в применении к диспрозию и самарию.

Спектр флуоресценции гадолиния состоит из единственной узкой яркой полосы, лежащей у 311 м.мк.

Спектр флуоресценции растворов солей церия состоит из одной широкой полосы, тянущейся от 330 до 402 м.мк. Чувствительность флуоресцентного метода определения церия очень велика. Зайдель и Ларионов фотографическим методом определяли концентрацию церия при его содержании в растворе 10^{-8} г/мл.

Спектры флуоресценции европия и тербия состоят из ряда характерных полос. Цвет флуоресценции раствора солей европия — красный, солей тербия — желто-зеленый. Соли европия еще уловимы при концентрации 10^{-4} г/мл. В применении к тербию чувствительность метода значительно выше: для его солей концентрации порядка 10^{-6} — 10^{-8} г/мл не являются еще предельными. Помимо обычной флуоресценции, соли тербия обладают длительным свечением порядка 0,001 сек.

Для определения р.з.э. в растворах в работе [2] использован бекмановский спектрофотометр с фотоумножителем; достигнутая чувствительность прибора позволяет исследовать спектры флуоресценции несмотря на очень малые интенсивности свечения. Характеризуя точность разработанного ими метода, авторы указывают, что на основании 88 повторных определений Ce и Pr в Th, Tb в Dy, в Yt и в Gd, проводившихся при разных концентрациях, они нашли, что среднее отклонение определения лежит в пределах от $\pm 1,5$ до 2%. Большая точность определения достигнута ими в отношении семи р.з.э. [3, 5].

Свойство р.з.э. сохранять типичные линейчатые и полосатые спектры флуоресценции и в твердом растворе использовано французским исследователем Сервином [4]; в разработанном им методе он определяет р.з.э. по их флуоресценции не только в видимой и ультрафиолетовой части спек-

тра, но и в инфракрасной. Сервинь подчеркивает влияние различных факторов на флуоресценцию р.з.э. в твердом растворе и вытекающую отсюда необходимость подбирать подходящий растворитель; он остановился на вольфрамате кальция. Химически чистый вольфрамат кальция обладает яркой флуоресценцией, распространяющейся на всю видимую часть спектра, с максимумом при длине волны 4358 Å; примеси подавляют эту флуоресценцию. Присутствие р.з.э. обнаруживается по разгоранию типичной для р.з.э. флуоресценции, еще достаточно яркой при содержании р.з.э. в количествах порядка тысячных долей процента. Исключение составляют лантан и церий; их этим путем выявлять не удается.

Источник возбуждения

*Обогреватель,
поддерживающий
температуру
около 50°*

Флуоресцирующее вещество

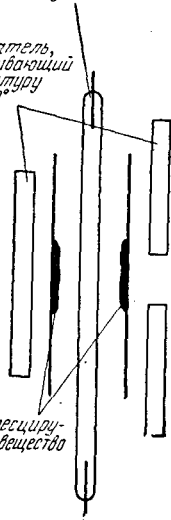


Рис. 52. Схема установки Сервиня.

Вольфрамат кальция готовится по Сервиню путем двухчасового прокаливания при 1100° смеси вольфрамового ангидрида и окиси кальция; наблюдения флуоресценции ведутся при температуре около 90° С, так как с повышением температуры полосы р.з.э. вырисовываются много резче благодаря ослаблению фона — эмиссии самого вольфрамата; последняя исчезает почти полностью при температурах еще более высоких, около 150° С, однако одновременно сильно деформируются спектры р.з.э. В описываемом методе рекомендуется наносить исследуемое вещество или на внешнюю поверхность источника возбуждения — разрядной трубки, или очень тонким слоем на внутреннюю поверхность муфты из стекла пирекс или кварца, внутрь которой помещается разрядная трубка (рис. 52). Для фотографирования излучения в видимой части спектра применялись пластинки Ильфورد (марка Astra III с мелким зерном). Время выдержки обычно не превышало 1/2 часа. В тех случаях, когда фотографируют спектры флуоресценции, лежащие при длине волны,

большой чем 5500 Å, рекомендуется предупредить возможность переэкспозиции в других областях спектра путем помещения красного светофильтра перед щелью спектрографа; отмечается, что неодим обладает характерным спектром флуоресценции в инфракрасной области (10 800 Å); в этом случае применялись пластинки Agfa (марка «инфракрасные-1050»); выдержка достигала 48 часов.

Ниже мы приводим таблицу Сервиня, позволяющую судить о степени чувствительности метода (табл. 13).

Цифры во втором столбце, показывающие для каждого элемента то минимальное количество, в котором его еще можно обнаружить, много меньше приведенных в первом столбце, характеризующих предельные концентрации. Объясняется это тем, что испытуемые светящиеся твердые растворы наносились в количествах, меньших 0,5 мг.

Как указывает Сервинь, при практическом использовании описываемого метода приходится обычно иметь дело со смесями, содержащими одновременно несколько р.з.э. На основе проделанных опытов он приходит к выводу, что и в этом случае метод вполне пригоден, и сообщает об его успешном применении в промышленности для контроля полноты разделения р.з.э. При применении способа «увлечения» р.з.э. из раствора путем соосаждения с окисью лантана описанный метод позволял следить, в какой мере и какие элементы «увлекаются» окисью лантана.

Сервинь считает, что интенсивность свечения наблюдавшихся им твердых растворов пропорциональна содержанию в них р.з.э. Сравнивая флуоресценцию образцов вольфрамата кальция, содержавших заданные количества р.з.э., Сервинь установил, например, для случая самария, что интенсивность красной линии самария (6357 Å) пропорциональна концентрации этого элемента при условии, если его содержание не превышает одной тысячной. Кроме того, он наблюдал независимость интенсивности флуоресценции р.з.э. (Nd и Pr), содержащихся в количествах порядка $5 \cdot 10^{-7}$ г/г, от сопутствующих примесей. В результате автор пришел к выводу, что предложенный им метод вполне пригоден и для количественного определения содержания р.з.э. Следует подчеркнуть, что это утверждение сделано на основании экспериментально установленной им пропорциональности между интенсивностью свечения и концентрацией редкоземельных элементов

Таблица 13

Элемент	Предельная, еще уловимая концентрация р. з. э. в г на 1 г растворителя CaWO ₄ (наблюдения при 90° С)	Предельное, еще уловимое, количество р. з. э. в г
Празеодим . . .	$5 \cdot 10^{-7}$	$2,5 \cdot 10^{-10}$
Неодим	$5 \cdot 10^{-6}$	$5 \cdot 10^{-7}$
Самарий	10^{-7}	$5 \cdot 10^{-11}$
Европий	$5 \cdot 10^{-7}$	$2,5 \cdot 10^{-10}$
Гадолиний	10^{-5}	10^{-6}
Тербий	$5 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-9}$
Диспрозий	$5 \cdot 10^{-6}$	$2,5 \cdot 10^{-9}$
Эрбий	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-9}$
Тулий	10^{-5}	$5 \cdot 10^{-9}$

в твердых растворах вольфрамата кальция и найденной им же независимости флуоресценций каждой из редких земель от присутствия других р.з.э. или иных примесей. Однако мы знаем, что в кристаллофосфорах влияние примесей нередко сказывается довольно резко; равным образом далеко не всегда флуоресценция, наблюдаемая при наличии нескольких активаторов, является суммарной. Закономерность, установленная Сервинем, относится только к исследованным им комбинациям редкоземельных элементов и только к определенным интервалам концентрации; применение метода требует большой осторожности *).

В более поздней работе Марша [6] мы находим указание, что при определении р.з.э. в шеелите спектральным методом (в вольтовой дуге) и путем химического анализа получены результаты, расходящиеся с данными Сервиня; в частности, последний дает для европия концентрацию, в двадцать раз большую против устанавливаемой Маршем. Расхождение анализов Сервиня и Марша видно из нижеследующего сопоставления данных, взятого из работы последнего (табл. 14).

Таблица 14

	Sm	Eu	Pr	Tb	Dy	Er	Tu	Nd	Gd	
a	3 (9)	2 (6)	1 (3)	(0)	(4)	(0)	(0)	(2)	(2)	10^{-4} % 10^{-4} %
b	100	500	100	1	10	1	—	—	—	
c	25	25	10	10	80	15	—	50	65	

*) Об аналогичном методе определения некоторых р.з.э. в металлическом бериллии и тории см. работы [27] и [28].

В таблице 14 строчки «а» и «б» даны по Сервиню, а «с» — по Маршу. В «а» указано число раз, когда в изучавшихся им 14—15 образцах шеелита (Forbes Reef Sheelite) соответствующий р.з.э. содержался в наибольшем количестве по сравнению с другими; цифрами в скобках обозначено число раз, когда данный р.з.э. наблюдался в количестве не меньшем, чем другие.

В строках «б» и «с» приведены содержания редких земель, найденных Сервином (б) и Маршем (с). Содержание выражено в % (общий множитель 10^{-4} вынесен в последнюю графу; 100 обозначает $100\% \times 10^{-4} = 0,01\%$).

Нельзя считать доказанным, что минерал Марша не отличался от анализированного Сервином, поскольку их идентичность устанавливалась Маршем лишь косвенным путем. Однако во всяком случае возможность ошибок, на которые мы выше указывали, исходя из общих соображений, представляется вероятной и применение метода (а тем более для количественных определений) требует особой осторожности.

По-видимому, и в данном случае люминесцентный метод можно использовать успешно как экспресс-метод лишь после того, как детально изучены все привходящие моменты.

Удобными для целей качественного анализа являются описываемые Гайтингером [7] наблюдения флуоресценции р.з.э. в шариках буры и фосфорной кислоты, получаемых приемами, общепринятыми в качественном анализе. По Гайтингеру при возбуждении искрой удается наблюдать с помощью спектрального окуляра от 3 до 6 отдельных полос в спектрах флуоресценции ряда солей. Так, у европия — три полосы: вишнево-красная, оранжевая и желтая; у самария — 6: темно-красная, вишнево-красная, оранжевая, желтая, зеленая и зелено-синяя. Похожий спектр, но менее характерный, имеют соли гадолиния. В шариках буры вся триада элементов — Sm, Eu и Gd — флуоресцирует чрезвычайно ярко. Не менее ясно выражены полосы в спектрах флуоресценции диспрозия и особенно тербия. Цериевые шарики буры светятся ярко-синим светом, — спектр сплошной с максимумом интенсивности около 450 м.мк.

Таблица 15

Название элемента	Предел уловимости в γ	Предельная концентрация
Церий	0,4	1 : 10 000
Самарий	4,5	1 : 1 000
Европий	20,0	1 : 500
Гадолиний	45,0	1 : 100
Тербий	2,0	1 : 5 000
Диспрозий	4,5	1 : 1 000

Гайтингер характеризует чувствительность этого метода открытия редких земель таблицей 15.

Зайдель и Малахова фотографировали спектры флуоресценции гадолиния и самария в перлах буры и показали, что видимое свечение, приписывавшееся Гайтингером гадолинию, обусловливалось примесью самария [8].

В качестве источника возбуждения они, как и Гайтингер, применяли искру.

Сопоставление цифр Сервиня с данными таблицы Гайтингера показывает, что метод Сервиня много чувствительнее. Так, последний позволяет улавливать количества диспрозия, почти в 1000 раз меньшие; самария — меньшие в 10 000 раз, гадолиния — в 45 раз, и т. д.

Метод определения р.з.э. по их спектрам люминесценции в твердых фазах использован с большим успехом Габерландтом [9]. Анализы осуществляются им не только путем исследования люминесценции минералов,

но и путем синтеза твердофазных систем с систематической добавкой микроэлементов и изучением на таких системах как спектров излучения, так и тушащего действия одних элементов на свечение других. Для определения содержания самария в минерале флуорите последний был переведен в сульфат кальция и по эталону путем сравнения интенсивностей свечения самария (красной полосы) была установлена концентрация самария в исходном флуорите ($1,8 \cdot 10^{-5}$ г Sm в 1 г минерала). Концентрация европия в полевом шпате была еще меньшей (10^{-6} — 10^{-5} г Eu в 1 г минерала). Содержание европия Габерланд определял путем сплавления минерала в восстановительной атмосфере и сравнения его свечения с флуоресценцией синтетически полученного минерала с определенным содержанием европия.

В аналитических целях детально исследовано свечение самария в вольфрамате кальция и в сульфате кальция [10]; разработана методика, позволяющая обнаруживать 0,05у самария в 25 мг вольфрамата кальция. Для регистрации излучения в работе применен монохроматор с фотоумножителем. Указывается, что при содержании в основании 10% вольфрамата свинца свечение самария на 50% интенсивнее. В сульфате кальция Sm светится при возбуждении ближним ультрафиолетовым светом; открываемый минимум — 15у в 100 мг сульфата, однако предварительным облучением потоком электронов можно значительно снизить этот минимум. Флуоресценция становится при этом ярко-красной и спектр ее представляется одной бесструктурной полосой (вместо 9).

Принципиально иной метод обнаружения р.з.э. описан в работе [11]; в нижнюю часть бесцветного водородного пламени вносят окись кальция; если она содержит редкоземельный элемент, то разгорается люминесценция и по ней выявляется присутствие того или иного р.з.э. Автор указывает, что метод настолько чувствителен, что позволяет обнаруживать 0,001у иттрия. Возникновение люминесценции автор объясняет возбуждением медленными электронами, присутствующими в водородном пламени.

б) *Уран и другие элементы.* Помимо р.з.э. способностью флуоресцировать обладают соединения урана; флуоресценция ураниловых соединений подробно изучена Вавиловым, Левшиным, Севченко и другими авторами [12]. Исследования по выяснению природы дискретной структуры спектров люминесценции ураниловых соединений продолжаются по настоящее время (см., например, [13]).

Для наблюдения флуоресценции в растворе необходимо переводить соединения урана в ураниловые, так как соли четырехвалентного урана, равно как и уранаты, в этих условиях не флуоресцируют. С аналитической точки зрения наибольший интерес представляет люминесценция U в перлах из NaF. Одновременно может наблюдаться мешающая определение люминесценция Nb. В перлах из KF она не проявляется, но свечение U слабее [7, 14]. Метод определения U в перлах полностью себя оправдал и находит широкое применение как в лабораторных, так и в полевых условиях [15]. Метод этот далеко не нов, еще в 1935 г. отмечалась его исключительная чувствительность [16], тем не менее работа по усовершенствованию метода и его видоизменению применительно к конкретным задачам и объекту анализа продолжалась [17]. Усилия исследователей направлены в основном на повышение чувствительности метода, на выяснение факторов, влияющих на яркость флуоресценции уранила в перлах, на устранение необходимости очищать от примесей соединение урана, выделяемое из анализируемого образца и вводимое в перл.

В работе [18] предложено добавлять к фтористому натрию 2% фтористого лития вместо плавня карбоната. Описан метод определения урана в природных водах и специальный прибор для плавления перлов [19]. Поскольку методом перлов определяют ничтожно малые количества урана (например, порядка 1μ урана в 1 г породы), содержание его в перле очень мало и приходится измерять яркость слабосветящихся малых поверхностей (дисков перлов). Отсюда вытекает необходимость создания усовершенствованных фотометров; эта задача успешно разрешена [20] (см. гл. VII).

В работе [21] указано, что концентрация U в морской воде $2,8 \cdot 10^{-6}$ г/л определена методом перлов. Предложен метод определения урана по флуоресценции его раствора в концентрированной кислоте [22, 23]. Для определения микроколичеств урана в биологическом материале рекомендуется предварительно, до люминесцентного определения, осаждать его протеином в виде уранопротеинового комплекса [22].

Метод перлов может быть применен и к определению Nb в рудах [23, 24]. О принципиально новом методе количественного определения компонента твердой фазы, разработанном Теофиловым для определения Sr в синтетическом рубине, см. гл. V, стр. 71—72.

в) *Твердые кристаллические системы.* Как указывалось в главе IV, число люминесцирующих кристаллических соединений чрезвычайно велико. Перспектива использовать их свечение в целях анализа долгое время казалась заманчивой. В пособиях по люминесцентному анализу мы находим длинные списки солей с указанием цвета их флуоресценции.

Следует различать два принципиально отличных случая: флуоресценцию химически чистых веществ и флуоресценцию многокомпонентных систем, представляющих кристаллические вещества с ничтожно малыми примесями посторонних ионов — активаторов, обуславливающих наблюдаемое свечение.

На фарадеевской конференции Рэндалл [25] в обзорном докладе по люминесценции твердых тел рассмотрел, какие из неорганических соединений могут считаться флуоресцирующими и в химически чистом состоянии. Помимо указанной выше группы солей, флуоресцирующих и в водных растворах, он относит к их числу галогениды марганца, ряд вольфраматов и молибдатов. При температурах много ниже 0°C некоторые нефлуоресцирующие соли приобретают способность люминесцировать. Кроме того, с понижением температуры спектры флуоресценции во многих случаях сужаются и появляются отдельные полосы.

В работе [26] проведено детальное исследование спектров низкотемпературной люминесценции ряда «чистых» солей (AgJ , HgJ_2 , PbJ_2 , CdS); авторы критически рассматривают имеющиеся в литературе представления о природе люминесценции «чистых» веществ и подчеркивают ее специфические отличия от свечения обычных кристаллофосфоров.

Давно известна люминесценция в твердом состоянии (т. е. при низких температурах) газообразных (при обычных условиях) металлоидов. Возможно, что в ближайшем будущем, когда пользование в лабораториях низкими температурами станет легко доступным, окажется целесообразным использовать низкие температуры для целей анализа неорганических соединений, как это уже практикуется в отношении некоторых органических веществ.

Согласно данным Рэндалла, из простых тел способностью люминесцировать обладает и фосфор. Много внимания уделяется за последние годы люминесценции алмаза (см. гл. XV).

Как выше указано, люминесценцию многокомпонентных систем (например минералов) с успехом используют для определения р.з.э. и урана, однако это трудно осуществимо в отношении других элементов, не обладающих характерными для р.з.э. особенностями структуры атомов. Их спектры люминесценции представляют собой в большинстве случаев бесструктурные широкие полосы, значительно смещающиеся в зависимости от структуры и состава кристаллического вещества в целом. Например, марганец в сернистом цинке светится оранжевым светом, в фосфате кадмия — красным, а в силикате цинка — желто-зеленым. И наоборот, одно и то же основное вещество, но с различными активаторами, светится по-разному. Например, сернистый цинк, активированный марганцем, флуоресцирует оранжевым светом, активированный медью — желто-зеленым, а серебром — синим.

Таким образом, как общее правило, люминесценция многокомпонентных кристаллических систем, т. е. кристаллических неорганических соединений, содержащих примеси, не является в достаточной мере характерной, чтобы по ней возможно было идентифицировать то или иное вещество, ту или иную примесь; однако в отдельных случаях такая возможность не исключена и соответствующие реакции разрабатывают [27, 28]. Наблюдения люминесценции твердофазных неорганических систем с успехом используют для решения некоторых частных вопросов. (Об этом уже сказано в гл. V, стр. 65—66).

2. Приемы II и III

За последние годы число работ, посвященных флуоресцентным реакциям (т. е. приему II), значительно возросло, одновременно изменился и их характер: флуоресцентные реакции разрабатывают с меньшей тщательностью, чем обычные аналитические, например, колориметрические. Все чаще их используют для количественных определений элементов, присутствующих в минимальных количествах, и применяют для этого объективные методы измерения интенсивности флуоресценции с помощью высокочувствительных фотоэлектрических фотометров.

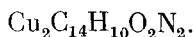
Флуоресцентные реакции предложены для большинства элементов, однако число реакций, доработанных и ценных для практики, еще сравнительно невелико, и детальнее мы здесь остановимся только на них. В приложениях к этому разделу для каждого элемента в таблице 18 указаны предложенные реакции, а в таблице 19 для каждого реактива—элементы, которые им открываются.

В подстрочные примечания к тексту вынесены описания тех реакций, которые основаны на наблюдении тушения флуоресценции и на применении адсорбционных флуоресцентных индикаторов (см. гл. VIII, стр. 128) или хемилюминесцентных реакций (см. гл. IX).

а) *Первая группа периодической системы элементов Менделеева.* Среди реакций на катионы элементов первой группы периодической системы заслуживает особого внимания реакция определения концентрации лития в растворе [1]. Реакция разрабатывалась для целей количественного определения лития в горных породах [2]. Из числа использованных для этого реактивов наилучшим оказался 8-оксихинолин, образующий с литием соединение, ярко флуоресцирующее зеленым светом; интенсивность свечения зависит от рН среды: с увеличением щелочности она возрастает, достигает максимума, а затем, немного снизившись, остается постоянной; в этом интервале рН и следует проводить измерения яркости для коли-

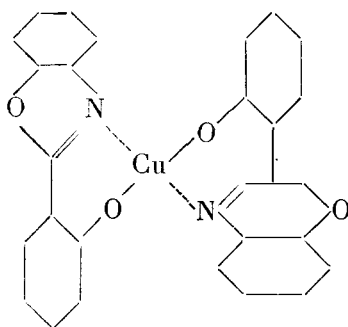
чественных определений лития. При проведении реакции нет надобности полностью удалять другие щелочные металлы. В этом и в быстроте выполнения анализа — основное преимущество рассматриваемого флуоресцентного метода количественного определения лития по сравнению с обычными весовыми методами [2]. Чувствительность метода — 0,5 γ Li в 5 мл.

В качестве люминесцентного реактива на медь Божевольновым и Лукиным предложен салицилалазин [12, 13]. Чувствительность разработанной ими реакции — 0,25 γ Cu в 5 мл раствора. В водном буферном растворе с pH=12 в присутствии меди и указанного реактива возникает яркая синяя флуоресценция, интенсивность которой пропорциональна содержанию меди в пределах концентраций 0,25—5,0 γ в 5 мл раствора. Механизм реакции связан с образованием внутрикомплексного соединения состава



Определению меди не мешают: Li, Na, K, Rb, Mg, Sr, Ca, Ba, Al, Hg, Pb, Sb⁺³, Sb⁺⁵, Cr, Se, Co, Tl, Pd, Cd, Ru, As, Ag. В присутствии железа, марганца, никеля и магния в количествах 50 γ в 5 мл раствора флуоресценция не обнаруживается, несмотря на наличие меди.

С целью количественного определения микрограммовых количеств меди, Божевольнов [13] применил ее титрование 0,01% раствором 2-(*o*-окси-фенил)-бензоксазола в ацетоне. При pH раствора меньшем шести указанный реактив флуоресцирует зеленым цветом, а в присутствии меди его флуоресценция ослабевает. Это связано с образованием нелюминесцирующего внутрикомплексного соединения вида



Люминесценция разгорается вновь, как только добавлен избыток реактива сверх потребного для образования указанного комплекса. По уменьшению интенсивности флуоресценции можно определять медь в количествах десятых долей γ . Реакция весьма специфична.

У кошенили в присутствии меди в щелочной среде меняется цвет флуоресценции от красного до бело-синего [15, 16]. Чувствительность реакции 10 γ в 5 мл раствора. Мешают флуоресценции Pb, Pt, Au *).

Предложено [17, 18] определять серебро щелочным раствором резорфуина, образующим с ним осадок, который легко обнаружить на фоне

*) Предложен хемилюминесцентный метод обнаружения меди при разбавлении 1 : 100 000 с помощью люминольной бумаги [14]. Имеется указание, что медь при разбавлении 1 : 100 000 в присутствии йодистого калия приводит к тушению флуоресценции α -нафтофлавона. Тушение обуславливается выделением йода [15, 16].

флуоресцирующего раствора резорфуина. Подобную реакцию дают Mg и Pb, а в присутствии аммиака Cu, Cd, Fe, Al, Cr, Ni, Zn, Sr, Ba*).

б) *Вторая группа.* Из числа люминесцентных реакций на катионы II группы достаточно изучены и находят практическое применение реакции на бериллий. Испробованы различные реактивы, в частности производные антрахинона. Так, 1-амино-4-оксиантрахинон в щелочном растворе в присутствии бериллия обнаруживает интенсивную флуоресценцию красного цвета [5, 21]. Реакция позволяет определять бериллий при разбавлении 1 : 1 000 000. Оптимальная концентрация щелочи 0,25 н, при ее увеличении свыше 0,3 н интенсивность флуоресценции уменьшается. Реакция является весьма специфичной. В описанных условиях такой же эффект дает только литий, и притом только при большей концентрации — 3,5 мг в 5 мл. Хлористый натрий тушит флуоресценцию комплекса бериллия с 1-амино-4-оксиантрахиноном при содержании 1 г в 5 мл. Окрашенные катионы, например хром, хотя и оказывают мешающее влияние, но только при еще большей концентрации. Не мешают осуществлению реакции анионы кислот: HCl, HNO₃, H₂SO₄, H₃BO₃. В щелочной среде фосфаты, арсенаты, молибдаты, вольфраматы, уранаты осаждают бериллий, но это может быть предотвращено добавлением виннокислой соли. Хроматы мешают — окисляют реактив.

Более чувствительным, но менее специфичным реактивом на бериллий является 8-оксихинальдин [25].

Пропись реакции: к 35 мл слабокислого раствора, содержащего 0,3—3,0γ бериллия, добавляют 5 мл 10% раствора хлористого аммония и 2 мл 1% раствора 8-оксихинальдина. После этого 2 н раствором NH₄OH доводят pH раствора до 8,0±0,2; переливают раствор в делительную воронку, разбавляют до 50 мл, экстрагируют 10 мл хлороформа и органический слой высушивают в эксикаторе. При количестве бериллия в исходном растворе 0,3—3,0γ сохраняется линейная зависимость между интенсивностью флуоресценции и концентрацией бериллия.

Раствор 8-оксихинальдина готовят растворением его двухграммовой навески в 4 мл ледяной уксусной кислоты и разбавлением водой до 200 мл. Определению не мешают ацетаты, сульфаты, хлориды, нитраты, фосфаты K, Na, NH₄ в количествах, меньших 1 мг, Mg в количестве, меньшем 15 мг, Ca — меньшем 5 мг и Al—100γ. Мешают определению Bi, Cd, Cr, Cu, Co, In, Fe, Ni, Sn, Ti, Zn. В работе [25] приводятся методы их отделения или маскировки.

Большое количество опубликованных работ [22, 26—30] посвящено определению бериллия с помощью морина (3,5,7,2',4'-пентаоксифлавона) — продукта растительного происхождения. В щелочном растворе морин с бериллием дает яркую зеленую флуоресценцию. По данным Гото [16] возможно определение бериллия морином при разбавлении 1 : 50 000 000. В работе [31] эта реакция применена для количественного определения бериллия в биологических объектах, детально исследованы

*) В работах Гото [19], а также Коксиса с сотрудниками [20] приводятся данные о возможности титрования серебра с использованием флуоресцентных адсорбционных индикаторов, а именно флуоресцина, тиофлавина, примулина, если титруют растворами хлористого натрия или бромистого калия, зозина и умбеллиферона, если титруют раствором йодистого калия, и β-метилумбеллиферона в случае хромовокислого калия.

Для определения серебра Гото использует гашение серебром люминесценции сульфата уранила в нейтральном или слабо солянокислом растворе [16]. Предельное разбавление 1 : 50 000. Не мешают небольшие количества Hg, Bi, Cd, Pb, Cu. Подобную же реакцию дает только таллий.

Для обнаружения золота при разбавлении 1 : 100 000 000 описана [16] реакция, основанная на тушении люминесценции α-нафтофлавона в присутствии KJ. Тушителем и здесь является выделяющийся йод.

условия, могущие служить источником ошибок, и разработана подробная методика выполнения реакции, дающая возможность определять $10^{-8}\%$ бериллия в моче. Недостаток метода — в его сложности, обусловливаемой необходимостью удалять примеси, поскольку они влияют на интенсивность флуоресценции конечного раствора. В работе [32] метод несколько упрощен. Следует подчеркнуть, что реактив морин должен удовлетворять требованиям достаточной чистоты. Согласно данным работы [33], используют морин для определения следов бериллия в пылеобразном состоянии; при этом для измерения яркости флуоресценции применяют фотомножитель. Авторы считают, что можно обнаружить $0,005\gamma$ бериллия. Основным недостатком реактива морина является его малая специфичность. При маскировке же мешающих примесей в значительной степени понижается чувствительность морина к бериллию [29]. Превосходит другие реакции и по чувствительности и по специфичности метод определения бериллия с помощью 2-(*o*-оксифенил)-бензотиазола, разработанный Хольцбехером [34]. Наибольшая яркость флуоресценции продукта реакции наблюдается при $\text{pH}=6,0$. Ни цинк, ни алюминий не вызывают флуоресценции; этим реакция выгодно отличается от описанных выше. Удастся определять бериллий при разбавлении 1 : 20 000 000. Ослабляют флуоресценцию Fe, Cr, Sn, Al, Bi, Sb, Zr, Ti, но их мешающее влияние можно замаскировать сегнетовой солью. Определению мешает также медь. Кроме указанных реакций, описано определение бериллия бензоином [21].

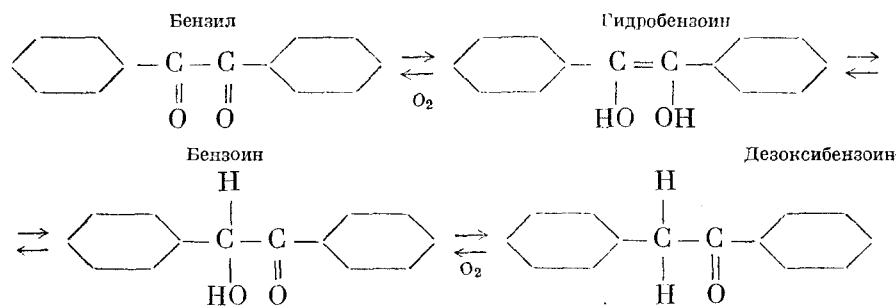
Имеется указание [10, 15] на возможность качественного определения 8-оксихинолином как магния (при разбавлении 1 : 2 000 000), так и кальция [15, 16]. Эти катионы в аммиачном растворе образуют с оксином нерастворимую внутрикомплексную соль, которая в отличие от оксихинолинов стронция и бария обладает яркой флуоресценцией.

В работах [126] приводится комплексометрическое определение кальция, стронция и бария*) как отдельно, так и в присутствии магния в сильно щелочном растворе с помощью флуоресцентного комплексометрического индикатора бис [N, N-ди-(карбоксиметил) аминотетил]-флуоресцеина, названного авторами «флуорексоном». Это соединение может быть применено также для флуоресцентного определения следов указанных металлов. В последнем случае можно количественно определять кальций при его содержании свыше 80γ в 1 мл раствора, или же соответствующее количество стронция или бария. Титрование кальция, стронция или бария удастся проводить в присутствии меди, цинка, кадмия, кобальта или никеля после добавления в титруемый раствор цианистого калия, а в присутствии железа, алюминия или марганца — после добавления триэтилоламина.

Детальнее остановимся на реакции обнаружения цинка бензоином [21, 35, 36]. При определении цинка по Уайту [35] к десяти миллилитрам исследуемого раствора последовательно приливают по 1 мл: а) щелочного раствора силиката натрия, б) 4%-ного раствора гидросульфита натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$) для удаления кислорода из раствора; в) раствора бензоина в этиловом спирте (концентрации 0,3%); г) раствора азотнокис-

*) Для обнаружения бария описана реакция его осаждения в виде BaSiF_6 в присутствии флуоресцентного адсорбционного индикатора — куркума [15, 16]. Последний адсорбируется осадком и флуоресцирует коричневым цветом. Чувствительность незначительна: 1 : 20 000. Подобную реакцию дает также магний [15]. Кальций и стронций с этим же реактивом в щелочной спирто-водной среде приводят к возникновению желто-зеленой флуоресценции, первый при разбавлении 1 : 500 000 и второй 1 : 20 000 [15, 16].

лого магния (содержащего 2 г магния в 1 л воды) для создания в растворе взвеси гидрата окиси магния, на которой, по мнению Уайта, адсорбируется комплекс цинка с бензоином состава: $Zn(C_6H_5 - CO - CO - C_6H_5)$; щелочной раствор силиката натрия добавляют для создания нужной среды и для повышения вязкости раствора. Его готовят добавлением 0,6 мл 35%-ного раствора силиката на 100 мл 2,5 н раствора едкого натра. В случае присутствия цинка через 1—2 минуты в ультрафиолетовом свете разгорается зеленая флуоресценция. Божевольнов [37] изучал спектральные характеристики флуоресценции, возникающей при взаимодействии цинка с бензоином в присутствии различных восстановителей, а также и кинетику нарастания флуоресценции. Им показано, что зеленая флуоресценция раствора разгорается в присутствии сульфита натрия как при наличии цинка, так и в его отсутствии, однако в первом случае быстрее. При применении в качестве восстановителя гидросульфита ($Na_2S_2O_4$) или пиросульфита натрия ($Na_2S_2O_5$) в пробе без цинка возникает не зеленая, а синяя флуоресценция, в то время как в пробе с цинком вначале развивается зеленая, а по прошествии некоторого времени синяя. В данном случае мы имеем дело с двумя различными флуоресцирующими веществами, скорость образования которых зависит и от окислительно-восстановительного потенциала системы, и от присутствия цинка. Схема возможных превращений бензоина следующая:



Божевольнов приписывает зеленую флуоресценцию дезоксибензоину, а синюю — бензилу, и показывает, что роль цинка сводится к каталитическому влиянию на скорость протекающих окислительно-восстановительных процессов. По этой причине указанная реакция трудно воспроизводима; она может быть применена как полуколичественная, и то лишь при тщательном контроле времени и точном соблюдении одинаковых условий при ее проведении с типовым, контрольным и анализируемым образцами. Чувствительность реакции 2,5 γ Zn в 5 мл раствора. В описанных условиях помимо цинка флуоресценцию бензоина вызывают сурьма и бериллий; в этом случае присутствие гидрата окиси магния не обязательно.

В качестве реактива на цинк и кадмий указан и 8-оксихинолин, образующий с обоими катионами в нейтральном или уксуснокислом растворе осадки оксихинолинов, флуоресцирующих светло-желтым светом [8, 15, 16, 38, 39]. Допустимое разбавление 1 : 500 000. Подобные осадки дают Be, Mg, Ca, Al, Zr. Имеется указание о возможности определения цинка кошенилью [16], уробилином [8, 40], морином [29], резорцинолом [41], однако все эти реакции не отличаются чувствительностью и специфичностью.

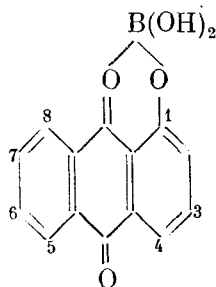
Описана реакция определения кадмия 2-(*o*-оксифенил)-бензоксазолом [42].

К испытываемому раствору добавляют виннокислый аммоний и едкий натр до достижения $\text{pH}=9,0$. Раствор нагревают до 60° и прибавляют такое количество реактива, чтобы достигнуть приблизительно 5—10% избытка реактива по сравнению с количеством, требуемым для перевода кадмия в комплекс; 1 н раствором едкого натра подщелачивают до $\text{pH}=11$. Через 15 минут выпадает осадок комплекса состава: $\text{Cd}(\text{C}_{13}\text{H}_8\text{O}_2\text{N})_2$. Его отфильтровывают, промывают раствором аммиака, растворяют в ледяной уксусной кислоте и по интенсивности флуоресценции судят о количестве кадмия. Таким путем можно открывать 0,1 мг кадмия в 50 мл раствора.

Имеется указание [15, 16] на возможность качественного определения кадмия путем получения его комплекса с пиридином и йодистым калием. Выпадающий осадок состава $\text{Cd}(\text{C}_5\text{H}_5\text{N})_2\text{J}_2$ флуоресцирует сине-белым светом. Аналогичную реакцию дает только свинец, но его комплекс флуоресцирует желто-коричневым светом.

На ртуть удовлетворительных реакций нет. Известно лишь, что при добавлении к раствору соли ртути двуххлористого олова и бромистого калия выпадает осадок HgBr , флуоресцирующий красным светом [15, 16]. Предельное разбавление ртути при этой реакции 1 : 100 000.

в) *Третья группа*. Большое количество люминесцентных реакций известно на элементы третьей группы периодической системы и в частности на бор. Широко известна возможность его определения ализариновым красным С (1,2-диоксиантрахинон-3-сульфокислота, натриевая соль) [44]. Этот реактив применяют в виде 0,002%-ного раствора в концентрированной серной кислоте. При определении смешивают раствор реактива с равным объемом анализируемого раствора. В присутствии бора желтая флуоресценция раствора переходит в розово-красную. Чувствительность реакции 5γ в 5 мл раствора. Определение бора удается осуществлять при 1000-кратном избытке большинства катионов и анионов, мешают лишь йодиды, хлораты, Sb, Fe. Мешающее влияние йодидов устраняют прибавлением порошкообразного сульфата серебра, хлоратов — введением 30%-ного раствора формальдегида, сурьмы — хлорной водой, а железа — путем его восстановления порошком двуххлористого олова [44]. При реакции образуется внутрикмплексный эфир с шестичленным циклом [45]



В качестве реактива пригодны и другие оксиантрахиноны, у которых окси-группы находятся в положении 1, 4, 5 или 8. Подобные внутрикмплексные соединения с бором образуют и аминокантрахиноны, аминоксиантрахиноны, например, 1-амино-4-оксиантрахинон [46], а также о-оксикарбонильные соединения, например, резацетофенон [47].

Другим весьма распространенным люминесцентным реактивом для открытия и количественного определения бора является бензоин. В отличие от цинка бор определяют бензоином в 85%-ном спиртовом щелочном растворе [48]. В присутствии бора разгорается флуоресценция синего цвета, максимальная интенсивность которой наблюдается через 4—5 мин.

Пропись реакции [48]: в мерной колбе на 50 мл к 5 мл анализируемого раствора прибавляют 0,5 мл 0,6 н раствора NaOH и разбавляют этиловым спиртом до 45 мл. Добавляют 4 мл 0,5%-ного спиртового раствора бензоина, засекают время секундомером, встряхивают раствор и доводят его объем этиловым спиртом до 50 мл, еще раз встряхивают, наливают в кювету и измеряют яркость флуоресценции по прошествии 2 мин. с момента добавления бензоина. Средняя ошибка определения не превышает 1,5%.

Метод, по данным авторов [48], с успехом использован для определения бора в сталях. Применение данной реакции для определения бора в различных объектах рассмотрено и в ряде других работ [21, 49—52]. В последней из них установлено, что отношение бензоина к бору в комплексе равно 1 : 1. В связи с тем, что указанный комплекс является нестойким, были попытки его стабилизировать. До некоторой степени этого удалось достигнуть путем применения глицинового буфера [50]. Чувствительность реакции—0,1 γ бора в 5 мл [48].

Интересен метод определения бора фенилфлуороном, предложенный Щербовым и Коржевой [57]; метод этот дает возможность проводить реакцию в водной среде. Авторы обнаружили интенсивную зеленую флуоресценцию фенилфлуорона в присутствии бора в щелочной среде [58]. Ими показано, что оптимальное значение pH этой реакции 9,5. При стоянии растворов с реактивом интенсивность их свечения изменяется: у раствора слепого опыта она снижается, а у анализируемого с бором, наоборот, возрастает; по прошествии суток можно обнаруживать бор при его содержании порядка 1 γ в 1 мл. Эта флуоресценция сохраняется в течение 2—3 дней. Многие катионы мешают проведению реакции, так как гасят флуоресценцию. Из анионов ослабляют свечение фосфаты и не оказывают влияния ацетаты, нитраты, сульфаты, хлориды и йодиды.

Большое число работ посвящено определению алюминия. Здесь мы имеем типичный пример флуоресцентной реакции, претерпевшей сложную эволюцию; были опробованы различные реагенты, уточнены условия проведения реакции, проверены мешающие факторы и в результате разработаны методы, оказавшиеся достаточно специфичными, чувствительными и точными для качественного и количественного определения следов алюминия в бериллии [24, 59], в металлическом магнии [114], морской воде [60], сталях и сплавах [61—63], в пиве [64]. Одной из первых была описана реакция алюминия с морином, известная в литературе под названием реакции Гоппельшредера [65]. Реакция проводится в уксуснокислом растворе при pH=3,0—4,5, и так же широко применяется, как капельная. В разных работах чувствительность реакции с морином оценивается по-разному и зависит она от качества реактива. Гото считает возможным с применением моринола открыть в капле раствора 0,01 γ Al, [16], в то время как еще в 1901 г. М. С. Цвет определял алюминий морином в количестве 0,0001 γ в капле раствора [66]. В условиях проведения реакции на алюминий моринол флуоресцирует и в присутствии Zn, Be, Ca, Sc [29]. Количественное определение алюминия морином приводится в работе [67].

Давыдов и Девекки предложили заменить труднодоступный моринол (3,5,7,2',4'-пентаоксифлавонол) его изомером кверцетином (3,5,7,3',4'-пентаоксифлавонол), который легко извлекается 85%-ным спиртом из кожуры лука [68]. Кверцетин, как и моринол, дает с алюминием интенсивную зеленую флуоресценцию.

По Божевольнову, Прянишникову и Пальчицу заменителем моринола может служить датисцин или экстракт коры корней растений рода Датиска [69]. В датисцине (3,5,7,2'-тетраоксифлавонол) сохранена комплексо-

образовательная окси-группа в положении 2' и он по химическим свойствам ближе к морину, нежели кверцетин.

Черкесов предложил в качестве люминесцентного реактива на алюминий 2,3-оксинафтойную кислоту [92]; реакция подробно описана как капельная и расценивается ее автором как весьма специфичная и чувствительная, дающая возможность открывать алюминий при разбавлении 1 : 10 000 000. Влияние галлия на реакцию не указывается.

Хольцбехером были испробованы флуоресцентные реакции растворов солей алюминия с салициловым альдегидом, нафталальдегидом и восемнадцатью их производными [85]. В результате им рекомендован в качестве люминесцентного реактива на алюминий салицилаль-*о*-аминофенол. Божевольновым изучена возможность применения этого реактива для количественного определения алюминия [87]. Им показано, что возникновение флуоресценции при прибавлении реактива к раствору алюминия связано с образованием внутрикмоплексного соединения алюминия с салицилаль-*о*-аминофенолом в отношении 1 : 1. Полоса флуоресценции комплекса лежит в интервале длин волн 440—640 мкм с максимумом 510—520 мкм. Для выполнения реакции оптимальное значение pH=5,8—6,0, и время нарастания флуоресценции 40—50 мин. при количествах алюминия 0,01—0,5γ в 5 мл раствора.

Оптимальное количество реактива для указанного интервала концентраций алюминия — 0,3 мл 0,01%-ного раствора в 10 мл испытуемого раствора. Пропорциональность между интенсивностью флуоресценции и концентрацией алюминия наблюдается вплоть до содержания алюминия 0,5γ в 5 мл раствора. Чувствительность реакции 0,0025γ в 5 мл раствора. В указанных условиях проведения реакции большинство катионов не вызывает флуоресценции салицилаль-*о*-аминофенола, если содержание их превышает 25γ в 5 мл раствора. Гасят флуоресценцию образующегося комплекса только Cu и Fe при концентрациях, больших чем 0,1γ на 5 мл раствора.

Используя данную реакцию, Божевольнов и Янишевская [88] разработали методы количественного определения алюминия в уксуснокислом натрии и ряде кислот при содержании алюминия в количествах $5 \cdot 10^{-9}$ — $5 \cdot 10^{-7}$ г/г. Галлий с салицилаль-*о*-аминофенолом при pH < 5 тоже образует флуоресцирующий комплекс, но чувствительность этой реакции не высока [86].

В настоящее время для определения алюминия широко используют 8-оксихинолин. На такую возможность указывалось уже давно [70]. В работе [62] дается описание детально разработанной методики определения алюминия в стали с помощью этого реактива.

Пропись реакции: навеску стали растворяют в смеси азотной и хлорной кислот, разбавляют до 200 мл, берут из полученного раствора аликвотную часть, содержащую 2—10γ Al, разбавляют 0,5 н H₂SO₄ до 50 мл и подвергают очистке электролизом с ртутным катодом. После электролиза добавляют 2 мл 2%-ного раствора 8-оксихинолина в 1н уксусной кислоте, аммоний ацетатный, буферный раствор (200 г уксуснокислого натрия и 30 мл концентрированного водного раствора аммиака в 1 л воды) и прибавлением аммиака доводят pH до 8±1,5. Образовавшийся оксихинолилат извлекают хлороформом. С помощью фотоэлектрического фотометра измеряют яркость свечения и определяют концентрацию по заранее построенной калибровочной кривой. Для градуировки фотоэлектрического фотометра удобно в этом случае пользоваться сульфатом хирина (1γ в 1 мл).

Авторы тщательно проверили возможные источники ошибок. Ими установлено, что избыток реактива (оксина) и время (до 24 часов), протекшее с момента добавления реактива, заметно не влияют на флуоресценцию. Примеси титана, ванадия и железа хотя и тушат свечение, но при их содержании, примерно одинаковом с алюминием, обуславливаемая ими ошибка все же меньше, чем при других методах. Флуоресценция рас-

твора еще доступна измерению при концентрации флуоресцирующего комплекса 0,2 μ на 50 мл; благодаря этому отделение примесей можно проводить в ничтожно малых объемах раствора, и этим достигается существенное упрощение анализа.

Метод удобен для определения алюминия в растворах [71]; он же использован для определения содержания алюминия в фосфатных горных породах [72] и, по-видимому, представляет немалый интерес при геологохимических изысканиях [24, 73]. С применением оксихинолина разработан метод определения алюминия в металлическом магнии [114].

Пропись реакции: к 100 мл испытуемого раствора добавляют 4 мл раствора оксихинолина и 2 мл буферного раствора. Экстрагирование образовавшегося оксихинолината алюминия хлороформом осуществляют дважды, объемами по 15—20 мл. Обе вытяжки соединяют, фильтруют через бумажный фильтр и доводят до 50 мл. Аналогично обрабатывают пробы стандартной серии и по интенсивности флуоресценции определяют количество алюминия. Открываемый минимум 0,2 μ Al в 5 мл раствора. Интенсивность флуоресценции возрастает пропорционально содержанию алюминия вплоть до концентрации 1,2 μ Al в 5 мл хлороформа. Образовавшийся комплекс устойчив в видимом свете, но при облучении ультрафиолетовым светом уже через 4—5 минут начинает разлагаться.

Оксихинолин, как и большинство других люминесцентных реактивов на алюминий, является одновременно реактивом и на галлий [74], отличие лишь в ином оптимальном значении pH (2,6—3,0). По данным Гурьева, Гинзбурга и Шибаренковой [75], чувствительность реакции определения галлия 8-оксихинолином 0,15—0,35 μ в 5 мл раствора.

В ряде работ в качестве люминесцентных реактивов на алюминий и галлий предложены различные азокрасители, содержащие в качестве функциональной аналитической группировки *o-o'*-диоксиазогруппировку, а также подобные им азометиновые соединения [21, 63, 80—91]. К числу азокрасителей принадлежит большой класс так называемых солохромовых красителей [111]; среди них наибольшей известностью пользуется реактив 2,2'-диокси-(1-азо-1')-4'-нафталинсульфо-кислота (цинковая соль), или кислотный хром — сине-черный [5, 21, 63, 80]. Этот же краситель носит название понтахром сине-черный — R. Реакция проводится в уксуснокислой среде. В присутствии алюминия возникает при нагревании яркая красная флуоресценция. Чувствительность реакции 0,5 μ в 5 мл раствора. В присутствии Cu, Cr, Fe, Ni, Co интенсивность люминесценции снижается, но эти катионы можно осадить раствором NaOH. Мешают также фтор и хлор. Первый из них может быть удален раствором CaCl₂, второй — восстановлением. Аналогично алюминию реагирует только галлий, однако в этом случае флуоресценция менее интенсивна, чем с алюминием.

Радлей [82] из большого числа испытанных им азокрасителей нашел лишь восемь таких, которые образуют с алюминием и галлием люминесцирующие комплексы, однако по мнению Ладенбауера, Коркиса и Гехта [83] все они не пригодны для количественных определений. Эти авторы предложили в качестве люминесцентных реактивов на галлий солохромовый красный (4-сульфо- β -нафтол- α -азо-1-фенил-3-метил-5-оксипиразол) и солохромовый черный (5-сульфо-2-оксифенил-азо- β -нафтол). Чувствительность реакции при применении последнего реактива 0,05 μ в 5 мл раствора. Оптимальное значение pH=4,7.

Еще чувствительнее (0,25 μ в 5 мл) реакция определения г а л л и я — сульфонафтазолорезорцином, предложенная Назаренко и Винковицкой [84]. Ее рекомендуется проводить в водно-спиртовой среде при pH=3,0, с использованием в качестве буфера монохлоруксусной кислоты. Отличи-

тельной особенностью солюхромового черного по сравнению с сульфонафтолазорезорцином является то, что его комплекс с галлием флуоресцирует лишь после извлечения из водного раствора трудно растворимыми в воде спиртами, как, например, бутиловым, амиловым, гексиловым.

В настоящее время удалось разработать еще более чувствительный метод количественного определения галлия. Божевольнов, Лукин и Градинарская изучали влияние заместителей на флуоресцентные свойства внутрикомплексных соединений галлия с диоксиазосоединениями и нашли, что 2,2',4'-триокси-5-хлор-1,1'-азобензол-3-сульфокислота, при ее применении в водной среде, является реактивом на галлий более чувствительным, чем сульфонафтолазорезорцин, и, кроме того, ее комплекс с галлием извлекается изоамиловым спиртом и флуоресцирует после этого более интенсивно [89—91]. В интервале значений $\text{pH}=1,7-3,5$ интенсивность флуоресценции комплекса галлия с этим реактивом практически постоянна. В случае равенства объемов изоамилового спирта и испытуемого водного раствора интенсивность флуоресценции извлеченного комплекса увеличивается в 3,5 раза. Интенсивность флуоресценции растворов реактива в присутствии галлия как в водных растворах, так и в изоамиловом спирте пропорциональна концентрации галлия, если последняя не превышает $0,5 \gamma$ в 5 мл раствора. В водном растворе чувствительность реакции $0,01 \gamma$ в 5 мл. При применении изоамилового спирта для извлечения комплекса и соотношении объемов изоамилового спирта и водного раствора 1 : 10 можно в последнем открыть галлий в количестве $0,0005 \gamma$ в 5 мл, что соответствует предельному разбавлению 1 : 10 000 000 г/г. Детальное исследование влияния различных катионов и анионов на интенсивность флуоресценции галлиевого комплекса показало, что при количествах, в 100 раз больших, чем содержание галлия, к тушению приводят Sn, Zr, Pr, а при количествах, в 10 раз больших, — Cu, Fe, V, Mo. Остальные катионы не тушат даже при 1000-кратном содержании. Алюминий способен образовывать флуоресцирующий комплекс, однако его флуоресценция менее интенсивна. При соотношении количеств галлия и алюминия 1 : 1 можно пренебречь присутствию последнего и выполнять измерения при pH раствора 1,7—3,5. В случае десятикратного избытка алюминия необходимо работать при pH растворов 1,7—2,7, а в случае стократного избытка — в еще более узком интервале значений $\text{pH}=1,7-2,2$. Применение метода добавок (см. приложение VII, стр. 396 — определение алюминия в уксуснокислом натрии) позволяет проводить определения и в присутствии гасящих примесей. Реакция с морином применена для определения следов галлия в минералах [29, 100], нефтяных водах [100], метеоритах [100], биологических объектах [101]. От основной массы посторонних катионов освобождаются путем извлечения галлия эфиром из солянокислого раствора. С целью увеличения специфичности реакции применяют обычные аналитические приемы, например флуоресценцию, обусловленную алюминием, уничтожают прибавлением раствора, содержащего в 100 мл воды 3 г фтористого натрия, 1,8 г буры и 5 мл ледяной уксусной кислоты [29]. В [100], с целью повышения специфичности реакции, приводится метод определения галлия, основанный на измерении яркости флуоресценции хлороформенного раствора купферон-морин-галлиевого комплекса *). Авторы указывают, что разработанный ими метод чувствительней применяемого в спектральном анализе и позволяет определять галлий в количествах от 1 до 6 γ в 6 мл хлороформа.

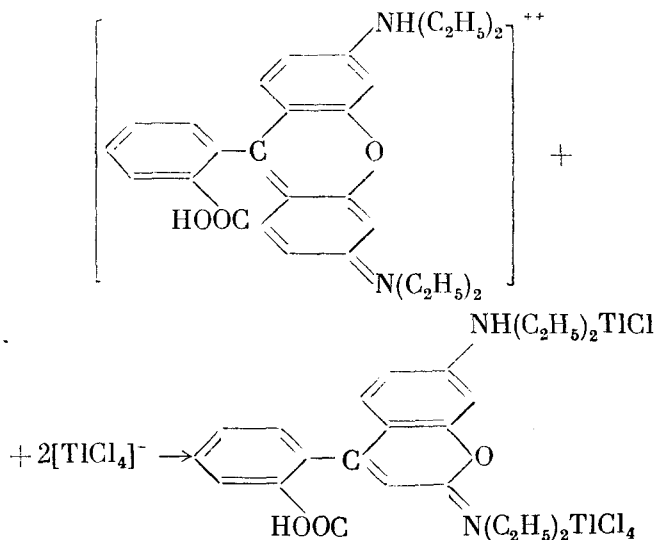
*) Состав комплекса остается невыясненным.

Реакция определения галлия родамином С [96—99] представляет интерес как наиболее специфичная. Определение галлия с применением родамин С осуществляют в 6-молярном растворе соляной кислоты после извлечения бензолом комплекса, образуемого галлием с родамином [96, 97]. Эта реакция усовершенствована Салтыковой и Фабриковой [98], а также Щербовым, Соловьян и Дробаченко [99]; установлено как на колориметрической [98], так и на люминесцентной реакциях [99], что по сравнению с отдельно взятыми эфиром и бензолом их смесь обладает лучшей способностью извлекать из солянокислого раствора родаминовый комплекс галлия. Чувствительность метода 0,1 μ в 5 мл.

Разработан ряд методов определения индия. Комплексы индия с 8-оксихинолином и морином образуются в тех же условиях, как и комплексы алюминия и галлия [26, 29, 76, 104], но индий можно предварительно отделить путем экстрагирования его хлорида хлороформом. Хорошие результаты получаются при содержании In от 0,1 до 16 μ в 1 мл [26, 76, 104]. При применении морины эти же количества индия в водном растворе с pH=2,5—5,0 можно определять без извлечения комплекса [29]. Раздельное определение индия и галлия удается с помощью морины и комплекса III [105].

В качестве люминесцентного реактива для открытия таллия Фейгль, Гентиль и Гольдштейн [107] применили родамин С, образующий с трехвалентным таллием соединение, флуоресцирующее в бензольном растворе оранжево-красным светом. Примеси сурьмы, золота и ртути удаляются путем вытеснения из раствора (восстановления) медной или латунной проволокой, на которой они отлагаются в виде металла. Метод позволяет обнаруживать 0,1 μ таллия в присутствии 500 μ золота, ртути и сурьмы. Применяя соосаждение таллия коллектором — двуокисью марганца, удается обнаруживать 0,1 μ таллия в 500 мл воды, что соответствует его определению при разбавлении 1 : 5 000 000 000.

Божевольнов и Янишевская [108] показали, что в составе комплекса таллия с родамином на одну молекулу последнего приходится два атома таллия. Его присоединение к молекуле родамин С происходит в виде отрицательно заряженного комплексного аниона, вероятно, по следующей схеме:



Оптимальные условия выполнения реакции следующие: концентрация соляной кислоты 18%, время нарастания люминесценции 45—50 мин., после чего она заметно не изменяется в течение 24 часов. Интенсивность флуоресценции бензольного слоя остается пропорциональной концентрации таллия вплоть до его содержания 5,0γ в 5 мл. Данная реакция применена для количественного определения таллия в некоторых солях [108]. При другой флуоресцентной реакции на таллий его присутствие обнаруживается по флуоресценции красного цвета, возникающей в растворах хлористого натрия (при возбуждении длиной волны 2537 Å), если только в растворе присутствует одновалентный ион таллия; открываемый минимум — 1γ, предельное разбавление 1 : 50 000 [21, 110]*).

Редкоземельные элементы определяют приемом первым, т. е. по свойственной им собственной люминесценции, однако не исключена возможность их определения с помощью люминесцентных реактивов, например кверцетина [112].

г) *Четвертая группа.* Из реакций на элементы четвертой группы периодической системы наибольший интерес представляют реакции на германий, цирконий и олово.

Количественный флуоресцентный метод определения германия разработан в 1954 г. [113]. Примененный реактив — резацетофенон; в концентрированных кислотах — серной или фосфорной — он дает с германием яркую желто-зеленую флуоресценцию растворов. Ни один другой металл с этим реактивом не реагирует. Борная кислота вызывает флуоресценцию синего цвета; галогениды тушат флуоресценцию в растворах серной, но не фосфорной кислоты. Предельное разбавление 1 : 10 000.

Детально разработана и, по-видимому, практически ценна реакция на ц и р к о н и й [115]. Предложенный реактив — 3-оксифлавоп. Флуоресценция соединения, образуемого с цирконием, чрезвычайно яркая, флуоресцирует и сам реактив, но его свечение (зеленое) отделяют с помощью светофильтра. Реакция в высокой степени специфична; в кислой среде из 53 изученных катионов и анионов с 3-оксифлавоном флуоресцируют, помимо циркония, лишь торий, алюминий и гафний. Соединение оксифлавона с цирконием устойчиво в 0,2 н серной кислоте, а в этих условиях не флуоресцируют ни алюминий, ни торий. Спектры флуоресценции, обуславливаемые цирконием и гафнием, перекрываются и по измеряемой яркости флуоресценции определяют суммарное содержание обоих элементов. Метод значительно упрощает определение циркония в рудах и особенно полезен, когда содержание двуокиси циркония в руде меньше 0,25%. Описан количественный метод определения циркония морином в среде 2 н HCl в присутствии алюминия, бериллия, бария, сурьмы, олова, тория и урана, основанный на сравнении интенсивностей флуоресценции до и после добавления комплексона III.

Описана чувствительная капельная реакция на о л о в о, позволяющая обнаруживать его в минералах, сплавах и шелке [118]. В работе используется свойство гидроокисей двух- и четырехвалентного олова образовывать с морином адсорбционные соединения, ярко флуоресцирующие сине-зеленым светом и устойчивые в отношении уксусной кислоты. Каплю подкисленного испытуемого раствора наносят на бумагу, держат над аммиаком и обрабатывают каплей ацетонового раствора мориона и затем уксусной кислотой. Метод дает возможность определять 20 γ олова

*) В работах Гото [16, 109] предложен метод определения таллия по гашению флуоресценции сульфата уранила и кошенили.

Описана реакция обнаружения таллия по яркой люминесценции, возникающей у кристалликов KJ, получаемых выпариванием его раствора, если в нем присутствуют следы таллия [111].

в капле раствора. В случае присутствия алюминия, трехвалентной сурьмы и циркония рекомендуется исходить из щелочных растворов сульфатов [119]. При определении олова в минералах и сплавах его сначала переводят в бензолный раствор в виде йодистого олова и с этим раствором проводят вышеописанную капельную реакцию [118]. В работе [121] приводится метод определения олова в медном сплаве.

В [122] описано флуоресцентное определение олова с помощью флаванола. В 0,1—0,5 н серной кислоте четырехвалентное олово с флаванолом образует комплексное соединение состава 1 : 1, которое флуоресцирует голубым светом. Чувствительность определения олова—0,02 γ в 1 мл. Мешают фториды, фосфаты, молибден. Цирконий образует комплексное соединение, обладающее такой же флуоресценцией, как и олово.

Специфичных чувствительных люминесцентных реакций на с в и н е ц не существует*). При разбавлении 1 : 200 000 он дает желто-зеленую флуоресценцию с морином, а с пиридином и йодистым калием в нейтральном растворе образует осадок комплексного соединения $Pb(C_2H_5N)_2J_2$, флуоресцирующий, в отличие от кадмия, желто-коричневым светом [15, 16].

д) *Пятая группа.* А з о т. Реакция обнаружения нитритов [124] основана на образовании нитрозилсерной кислоты при взаимодействии нитритов с концентрированной серной кислотой. Нитрозилсерная кислота образует с резорцином резорурфин, ярко флуоресцирующий в щелочном растворе желто-красным светом.

Пропись реакции: на испытуемое вещество настилают раствор 0,5—0,6 г резорцина в 100 г концентрированной серной кислоты и нагревают до появления паров. После охлаждения разбавляют 50 мл воды, нейтрализуют содой и фильтруют; флуоресценция образующегося резорурфина особенно заметна на черном фоне. Железо, сера и избыток окислителей мешают реакции. Нитриты нельзя открывать в присутствии нитратов. Открываемый минимум 15 γ .

Другая реакция основана на тушении нитритами флуоресценции магдалового красного при повышенной температуре.

М ы ш ь я к определяется Гото с помощью уранилнитрата: выделяющийся в присутствии мышьяка осадок флуоресцирует желто-зеленым светом [16]. Чувствительность незначительна: 1 : 10 000.

Как указывает Гайтингер, чувствительность реакции Гуцай на мышьяк с бумажками, пропитанными сулемой, значительно повышается при наблюдении флуоресценции образующейся мышьяковистой кислоты. Открываемый минимум мышьяковистой ангидрида можно довести до 1 γ [8].

е) *Шестая группа.* С е р а. Определение сульфатов в воде может быть выполнено с применением флуоресцентного индикатора «флуорексона» [126]; при этом используется описанное нами ранее определение бария путем его титрования комплексом: о количестве сульфат-иона судят по уменьшению количества бария, вносимого в анализируемый раствор в виде $BaCl_2$ и частично отфильтровываемого в виде нерастворимого осадка $BaSO_4$.

Обнаружение сернистой кислоты [8, 127, 128].

К 10 мл испытуемого раствора добавляют из капельной воронки достаточное количество соляной кислоты и осторожно нагревают; отгоняемый погон собирают в пробирку, содержащую раствор перекиси водорода в 5 мл дистиллированной воды.

*) Миллиграммовые количества свинца могут быть оттитрованы с применением люминесцентных адсорбционных индикаторов из числа тех, которые описаны при рассмотрении способов титрования ртути [43] соляной кислотой, оксалатом, фосфатом и другими анионами, дающими труднорастворимые соли со свинцом.

Когда отгонится около 2—3 *мл.*, тщательно взбалтывают пробирку и добавляют в нее следы хинина. Присутствие сернистой кислоты обнаруживается по яркой флуоресценции синего цвета, если содержание сернистого газа было не меньше 250 γ .

По Гранту [128], эту же реакцию можно применить для обнаружения сульфидов. В этом случае прибавляют хинин в виде насыщенного раствора. Открываемый минимум 100 γ .

К и с л о р о д. Ряд работ посвящен определению кислорода и озона [133—137]. Чувствительным реактивом на кислород является щелочной раствор лейкооснования флуоресцеина [133] (флуоресцин), который получают восстановлением цинковой пылью щелочного раствора флуоресцеина в атмосфере азота или иного инертного газа. При просасывании через этот реактив анализируемой газовой смеси флуоресцин в присутствии кислорода окисляется во флуоресцеин, и раствор начинает флуоресцировать. По интенсивности свечения можно судить о количестве окисленного лейкооснования и, следовательно, о количестве кислорода, содержащегося в прошедшем через реактив объеме анализируемого газа. Количественные измерения осуществимы при содержании кислорода порядка нескольких γ .

Каутский [134] обнаруживает присутствие кислорода по его тушащему действию на флуоресцирующие адсорбаты красок.

В работе, напечатанной в 1944 г., Поллак, Прингсгейм и Тервуд [135] указывают, что видоизмененный метод Каутского позволяет обнаружить $5 \cdot 10^{-8}$ *мл.* кислорода.

Описан метод определения следов кислорода, растворенного в воде [136]. Раствор адреналина в 25 %-ном растворе щелочи не обнаруживает своей типичной флуоресценции желто-зеленого цвета, если не содержит растворенного кислорода. При разбавлении растворов адреналина водой, содержащей следы растворенного кислорода, появляется типичная флуоресценция желто-зеленого цвета; ее интенсивность при одинаковых концентрациях адреналина пропорциональна количеству растворенного кислорода. Открываемый минимум лежит ниже $1,81 \cdot 10^{-6}$ *мл.* Метод может быть использован как количественный.

Определение концентрации озона в воздухе [137]. Спиртовой раствор дигидроакридина при взаимодействии с озоном воздуха окисляется в акридин, для которого характерна яркая флуоресценция, возбуждаемая коротковолновой частью спектра лампы накаливания. Интенсивность флуоресценции пропорциональна концентрации образовавшегося акридина и, следовательно, количеству озона, вошедшего в реакцию; однако это справедливо только в том случае, если сравнивать растворы с одинаковой концентрацией водородных ионов. Поэтому к спиртовому раствору дигидроакридинового реактива прибавляют смесь ацетата калия и уксусной кислоты. При таких условиях просасывание воздуха не меняет рН раствора.

При определении содержания озона воздуха необходимо учитывать окисляющее действие окислов азота. Для этого анализируемый воздух просасывают через две пробы дигидроакридинового реактива; на пути в одну из них воздух проходит не только через промывалку с серной кислотой, но еще и через трубку с перекисью марганца, полностью разрушающей озон. Разность концентраций акридина, образовавшегося в обеих пробах в результате окисления дигидроакридина, пропорциональна количеству озона, поглощенного из воздуха.

Концентрация акридина определялась измерением интенсивности свечения растворов реактива после просасывания через них воздуха. Измерения интенсивности осуществлялись методом гашения до порога

зрения (на рис. 53 приведен вид этого фотометра). Чувствительность этого метода такова, что, несмотря на малое содержание озона в воздухе (порядка $0,02 \text{ мг в } 1 \text{ м}^3$), при его определении можно было довольствоваться просасыванием через реактив от 1 до 3 л воздуха.

Автор работы [137] провел этим методом большое число определений содержания озона в воздухе в Москве, на Эльбрусе и в пробах воздуха, взятых из высоких слоев атмосферы.

Таблица 16 дает результаты определений содержания озона в воздухе у поверхности земли, а таблица 17—найденное содержание озона в атмосфере на больших высотах.

Детальнее мы остановились на опытах по количественному определению содержания озона в воздухе, проводившихся по идее академика С. И. Вавилова, потому что они являются хорошей иллюстрацией исключительной чувствительности флуоресцентного метода анализа. На этом примере видно, насколько эффективным может быть метод, когда он применяется к разрешению вопросов, отвечающих по своему характеру его специфическим особенностям.

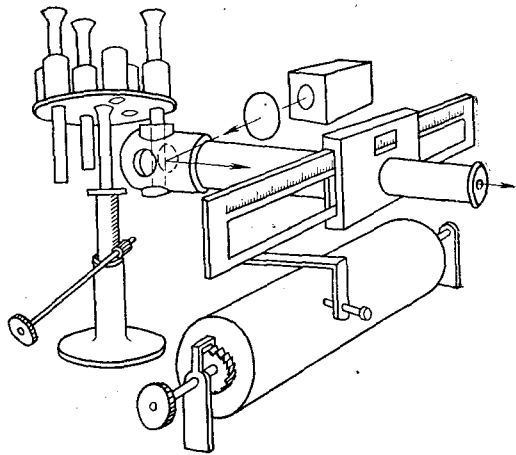


Рис. 53. Общий вид фотометра.

Таблица 16

Содержание озона в воздухе над снегом на высоте 1—1,5 м

Место измерения	Дата	Высота над уровнем моря, км	Концентрация озона, г/л
ФИАН, Москва	1935 г. 27/XI	0,1	$7,2 \cdot 10^{-8}$ *)
То же	28/XI	0,1	$5,5 \cdot 10^{-8}$
» »	29/XI	0,1	$2,2 \cdot 10^{-8}$
» »	7/XII	0,1	} $< 2,0 \cdot 10^{-8}$
» »	8/XII	0,1	
» »	9/XII	0,1	
» »	11/XII	0,1	$2,2 \cdot 10^{-7}$ *)
» »	14/XII	0,1	$1,9 \cdot 10^{-7}$ *)
» »	1936 г. 3/I	0,1	$< 2,0 \cdot 10^{-8}$
» »	28/III	0,1	$1,9 \cdot 10^{-7}$
Эльбрус (экспедиция ФИАН)	1936 г.	5,3	$3,5 \cdot 10^{-7}$
То же	1935 г.	5,3	$2,4 \cdot 10^{-7}$
» »	1936 г.	4,3	$2,4 \cdot 10^{-7}$
» »	1935 г.	4,3	$2,8 \cdot 10^{-7}$
» »	1935 г.	4,3	$7,3 \cdot 10^{-8}$ (на скалах, вдали от снега)

*) Дни снегопада.

Таблица 17

Содержание озона в воздухе на разных высотах

Место взятия пробы	Высота, км	Концентрация озона	
		г/л	см/км
Стратосфера . . . {	Около 14	$1,0 \cdot 10^{-7}$	0,00466
	Около 13	$9,8 \cdot 10^{-8}$	0,00455
Субстратосфера	9,6	$8,7 \cdot 10^{-8}$	0,00404
Эльбрус {	4,3	$7,3 \cdot 10^{-8}$	0,00340
	2,2	$5,7 \cdot 10^{-8}$	0,00268
Москва	0,1	$< 2,0 \cdot 10^{-8}$	$< 0,00092$

ж) *Седьмая группа.* Бром. Обнаружение следов брома [138]. На бумаге, смоченной раствором флуоресцеина, в присутствии брома цвет флуоресценции резко изменяется: бром замещает два атома водорода в молекуле флуоресцеина, и образуется краситель эозин с характерной флуоресценцией желтого цвета.

Фтор. Интересна реакция на фториды*), основанная на разрушении флуоресцирующих комплексов алюминия. Бабко и Ходулина [139] описали капельную реакцию: на бумажку, смоченную 0,1% раствором кварцетина и 0,2 н раствором уксусной кислоты, наносят каплю испытуемого раствора, добавив к нему нитрат алюминия. При отсутствии фтора в ультрафиолетовом свете разгорается яркая флуоресценция комплекса алюминия с кварцетином; в присутствии фтора флуоресценция не разгорается или много слабее. Чувствительность реакции оценивается авторами 0,1 μ в капле раствора. Авторы описывают и второй вариант реакции, при котором бумажку пропитывают смесью 10^{-3} мол раствора нитрата тория и в качестве комплексообразователя применяют 3%-ный водный настой кошенили. Реакция разрушения фторидами флуоресцирующих комплексов алюминия лежит в основе и всех других методов определения фторидов, детально изученных при использовании различных комплексообразователей [140]. Для микроколичеств фторидов хорошие результаты получены при использовании комплексных соединений алюминия с морином или 8-оксихинолином. В более поздней работе [141] в качестве еще лучшего реагента предложен алюминиевый комплекс с красителем супрем гарнет V; флуоресценция комплекса очень яркая, желтого цвета. Из этого комплекса готовят стандартный раствор и измеряют снижение яркости при добавлении фторидов. Присутствие фосфатов существенно не влияет. Аналогичная реакция, но с магниевым комплексом 8-оксихи-

*) Открытие анионов Cl', Br', J', CN', CNS' и S'' при помощи нитрата уранила [144] основано на наблюдении тушащего действия перечисленных анионов на флуоресценцию нитрата уранила. Другие анионы, равно как и галлоиды, входящие в состав органического вещества в неионизированном состоянии, такого действия не имеют.

Тушение флуоресценции определенного количества уранилового иона вызывается количествами различных анионов, относящимися между собой приблизительно как эквивалентные их веса. Это позволяет обнаруживать ничтожно малые количества перечисленных ионов. Указывают, что этим путем можно обнаруживать соляную кислоту в хлороформе в количествах меньших, чем этого требует фармакопей.

Подобно описанному выше титрованию серебра раствором соляной кислоты, с применением адсорбционных флуоресцентных индикаторов можно с теми же индикаторами титровать Cl, Br, J, CNS раствором AgNO₃ [145]; например, если об эквивалентной точке при титровании йода судить по флуоресценции тифлавина, то удастся оттитровывать $2 \cdot 10^{-7}$ эквивалента йода [146].

нолина, применена для оценки загрязнения воздуха фторидами [142, 143, 24].

з) *Восьмая группа*. Люминесцентные реакции известны для Fe [15, 16, 18, 129], Co и Ni [14—16, 18]; особого интереса эти реакции не представляют.

3. Приемы II и III с использованием бумажной хроматографии

Заканчивая обзор методов определения элементов периодической системы по группам, следует указать на описанный во многих работах новый прием в аналитической химии — метод бумажной хроматографии (гл. V, стр. 63), примененный для обнаружения и разделения катионов. Готовую хроматограмму обрызгивают раствором оксихинолина [147—149] или заблаговременно им пропитывают бумагу, на которой проводят хроматографирование [148, 150]. Флуоресценция образовавшихся комплексов выявляет местоположение «пятен» катионов, а это позволяет определить для них значение R_f . По численному значению R_f определяют, какому из катионов принадлежит данное «пятно» даже и в том случае, когда флуоресценция отдельных «пятен» сходна. В зависимости от количества флуоресцирующего компонента, нанесенного в анализируемой капле, «пятна» одного и того же вещества различаются по размеру и по интенсивности флуоресценции.

На бумажных хроматограммах 8-оксихинолин был пригоден для выявления почти всех катионов, в том числе и щелочноземельных [147—150, 153].

Для выявления калия рекомендован реактив фталамино-сульфокислота [152], а для лития и натрия — раствор цинкуранилацетата [149].

М. С. Иванова [153], исследовавшая возможности использования бумажной хроматографии для определения загрязняющих примесей в неорганических препаратах, применила для хроматографирования круглые фильтры.

4. Табличные данные

Таблица 18

Перечень элементов и реактивов для их определения люминесцентным методом *)

№ п/п	Название	Символ	Реактивы	Литература
1	Алюминий	Al	2,2'-диокси (1-азо-1')-4-наф- талинсульфокислота (Zn соль) Кверцетин Морин **) 2,3-оксинафтойная кислота Оксихинолин Салицилаль- <i>o</i> -аминофенол	[5], [24], [63], [80] [68] [29], [16], [65] — [67]. [125] [92] [24], [62], [70], [72]. [73], [114] [85, 87, 88]
2	Барий	Ba	Куркумин Флуорексон	[15], [16] [126]

*) Люминесцентные реакции, опубликованные за период 1958—1960 гг., приведены в статье: Е. А. Божевольнов, Заводск. лабор. 27, № 9 (1961).

**) Вместо морина можно применять раствор датисцетина [69].

Продолжение табл. 48

№ п/п	Название	Символ	Реактивы	Литература
3	Бериллий	Be	1-амино-4-оксиантрахинон Бензоин 1,8-диоксиантрахинон 1,4-диоксиантрахинон Морин 2-(<i>o</i> -оксифенил)-бензотиазол 8-оксихинальдин	[5], [21] [21] [5] [18—24] [16], [22], [26—33] [34] [25]
4	Бор	B	Ализариновый красный С Бензоин 1-амино-4-оксиантрахинон Кверцетин Кошениль Резацетофенон Фенилфлуорон Флаванол	[44] [21], [48—52] [46] [55] [8], [54] [47], [56] [57], [58] [18], [53]
5	Бром	Br	Нитрат уранила Флуоресцеин Адсорбционные индикаторы	[8], [142], [144] [138] [145], [146]
6	Вольфрам	W	Какотелин Кошениль Морин 3-оксифлавоп Родамин С Ализаринсульфонат Na	[15], [16] [15], [16] [15], [16] [115] [15], [16], [131] [132]
7	Галлий	Ga	5,7-дибром-8-оксихинолин Карминовая кислота Морин 8-оксихинолин Родамин С Родамин 6-Ж Люмогаллион ИРЕА Салицилаль- <i>o</i> -аминофенол Солохромовый красный Солохромовый черный Сульфонафтол-азо-резорцин	[94], [95] [93] [16], [29], [100—103] [75—79] [96—99] [99] [89—91] [86] [83] [83] [84]
8	Германий	Ge	Бензоин Морин Резацетофенон	[56] [29] [113]
9	Железо	Fe	Кошениль Люминол α -нафтофлавоп Резорурфин Родамин С	[15], [16] [14] [15], [16] [129] [18]

Продолжение табл. 18

№ п/п	Название	Символ	Реактивы	Литература
10	Золото	Au	α -нафтофлавон	[16]
11	Индий	In	Морин 8-оксихинолин	[26], [29], [105], [106] [76], [104]
12	Йод	I	Люминол α -нафтофлавон Нитрат уранила Адсорбционные индикаторы	[14] [15], [16] [8], [142], [144] [138]
13	Кадмий	Cd	Морин 2-(<i>o</i> -оксифенил)-бензоксазол 8-оксихинолин Пиридин	[9], [29] [42] [16], [39] [15], [16]
14	Калий	K	8-оксихинолин Цинкуранилацетат	[9—11] [3], [6—8]
15	Кальций	Ca	Куркумин 8-оксихинолин Флуорексон	[15], [16] [10], [15] [126]
16	Кислород (Озон)	O ₂ O ₃	Флуоресцин Адреналин Акридин	[133] [136] [137]
17	Кобальт	Co	Кошениль Люминол Родамин С	[15], [16] [14] [18]
18	Литий	Li	1-амино-4-оксиантрахинон Кверцетин 8-оксихинолин Уранилацетат	[5] [4] [1, 2] [3]
19	Магний	Mg	Куркумин 8-оксихинолин Резорурфин	[15] [15], [16] [17], [18]
20	Марганец	Mn	Люминол	[14]
21	Медь	Cu	Кошениль Люминол α -нафтофлавон 2-(<i>o</i> -оксифенил)-бензоксазол Салицилальазин	[15], [16] [14] [15], [16] [13] [12], [13]

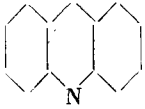
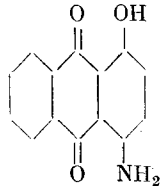
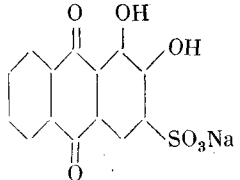
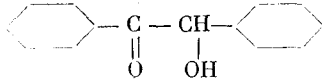
Продолжение табл. 18

№ п/п	Название	Символ	Реактивы	Литература
22	Молибден	Mo	Каготелин Кошениль Люминол Морин	[15], [16] [15], [16] [14] [130]
23	Мышьяк	As	Уранилнитрат	[16]
24	Натрий	Na	8-оксихинолин Цинкуранилацетат	[9], [14], [10] [3], [6—8]
25	Никель	Ni	Кошениль Люминол	[15, 16] [14]
26	Олово	Sn	Морин 6-нитро-2-нафтиламин-8-суль- фокислота 8-оксихинолин Флаванол	[29], [118—120] [121] [76], [120] [122]
27	Рубидий	Rb	8-оксихинолин	[8—11]
28	Свинец	Pb	Люминол Морин Пиридин Резорурфин	[14] [15, 16] [15, 16] [17, 18]
29	Селен	Se	Акридин Морин α -нафтофлавон Хинин	[15, 16] [29] [15, 16] [15, 16]
30	Сера	S	Нитрат уранила Хинин Флуорексон	[8], [144] [127, 128] [126]
31	Серебро	Ag	Адсорбционные индикаторы Резорурфин Сульфат уранила	[19, 20] [17, 18] [16]
32	Скандий	Sc	Морин	[26], [29], [105]
33	Стронций	Sr	Куркумин Флуорексон	[15, 16] [126]

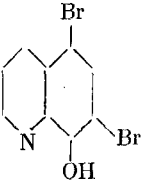
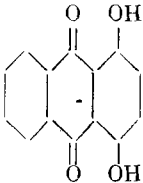
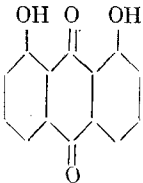
Продолжение табл. 18

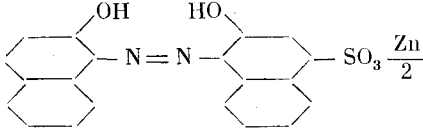
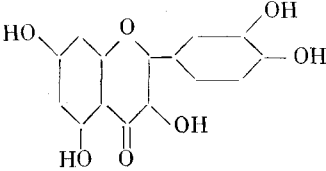
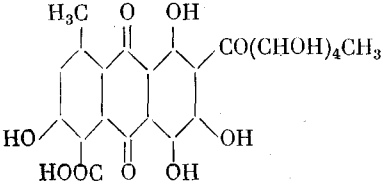
№ п/п	Название	Символ	Реактивы	Литература
34	Сурьма	Sb	Бензоин Морин Родамин С	[35], [129] [15, 16], [29] [15, 16]
35	Таллий	Tl	Кошениль Родамин С Сульфат уранила	[16], [109] [107, 108] [16]
36	Теллур	Te	Акридин Морин α -нафтофлавон Хинин	[15, 16] [29] [15, 16] [15, 16]
37	Титан	Ti	Салициловая кислота	[15, 16]
38	Торий	Th	1-амино-4-оксиантрахинон 1-8-диоксиантрахинон Морин	[5] [123] [123]
39	Фосфор	P	Адсорбционные индикаторы	[43]
40	Фтор	F	Кверцетин Люминол Морин 8-оксихинолин Флуоресцеин	[139] [14] [140] [24], [140], [142, 143] [138]
41	Хлор	Cl	Адсорбционные индикаторы Нитрат уранила	[145, 146] [8], [144]
42	Хром	Cr	Акридин Люминол Резорурфин	[15, 16] [14] [129]
43	Цезий	Cs	8-оксихинолин	[9—11]
44	Цинк	Zn	Бензоин Кошениль Морин 8-оксихинолин Резорцинол Уробиллин	[24], [35—37] [16] [29] [8], [15, 16], [38, 39] [41] [8], [40]
45	Цирконий	Zr	Кверцетин 3-оксифлавон 8-оксихинолин Морин	[116] [115] [15, 16] [15, 16], [29], [117]

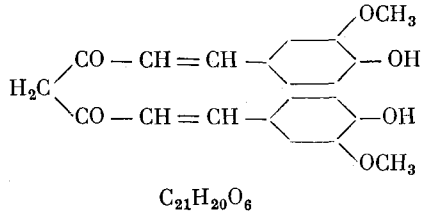
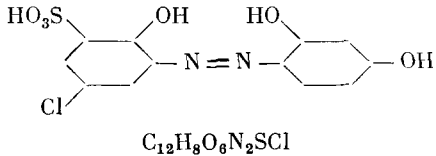
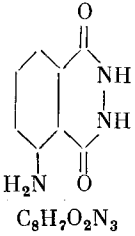
Перечень люминесцентных реактивов и открываемых ими элементов *)

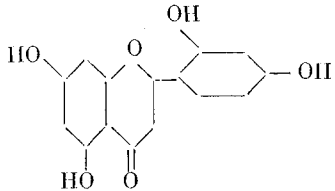
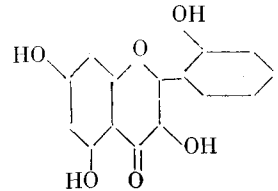
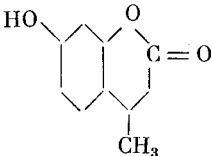
№ п/п	Наименование реактива	Формулы: структурная и эмпирическая	Определяемые элементы	Литература
1	Акридин*	 $C_{13}H_9N$	O ₃ Cr Se Te	[137] } [15, 16]
2	1-амино-4-окси-антрахинон*	 $C_{14}H_9O_3N$	Li Th Be B	[5] [5] [5], [21] [46]
3	Ализариновый красный С*	 $C_{14}H_7O_7SNa \cdot H_2O$	B	[44]
4	Бензоин*	 $C_{14}H_{12}O_2$	Zn Be B Sb Ge	[21], [35—37] [21] [21], [48—52] [21], [35], [37] [56]

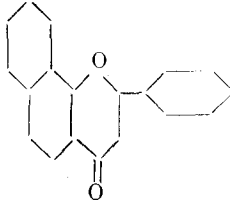
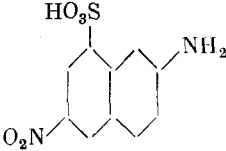
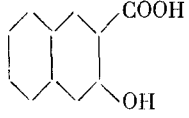
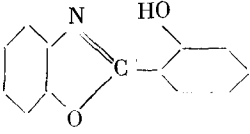
*) Реактивы, отмеченные звездочкой, производятся заводами химических реактивов.

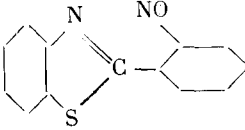
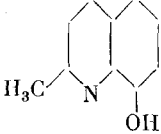
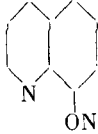
№ п/п	Наименование реактива	Формулы: структурная и эмпирическая	Определяемые элементы	Литература
5	5,7-дибром-8-оксихиолин *	 $C_9H_5ONBr_2$	Ga	[94], [95]
6	1,4-диоксиантрахинон (хи- низарин) *	 $C_{14}H_8O_4$	Be	[18—24]
7	1,8-диоксиантрахинон	 $C_{14}H_8O_4$	Be Th	[5] [123]

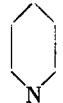
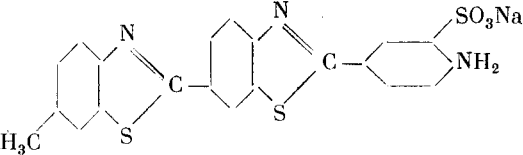
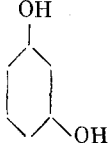
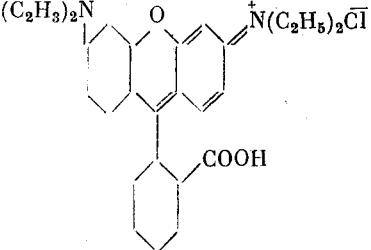
№ п/п	Наименование реактива	Формулы: структурная и эмпирическая	Определяемые элементы	Литература
8	Кислотный-хром-сине-черный * 2,2'-диокси-(1-азо-1')-4- нафталинсульфокислота	 $C_{20}H_{13}O_5N_2S \frac{Zn}{2}$	Al Ga	[5], [21], [63], [80] [5], [80]
9	Какотелин	Нитропроизводное бруцина	Nb W, Mo	[106] [15, 16]
10	Кверцетин 3,5,7,3',4'-пентаоксифла- вон	 $C_{15}H_{10}O_7$	Al Th, Ce, Eu Zr Li, Hg B F	[68] [112] [116] [4] [55] [139]
11	Карминовая кислота (кошениль—Al, Ca соль карминовой кислоты)	 $C_{22}H_{20}O_{13}$	Co, Mo, Cu Ni, Fe, Mn, W Ga B Tl Zn F	} [15, 16] [93] [8], [54] [16] [16], [18] [139]

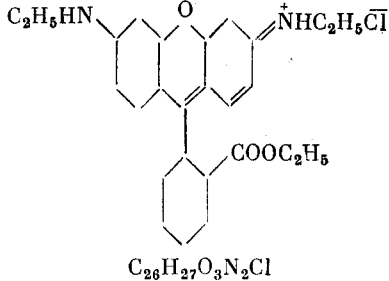
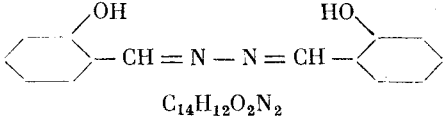
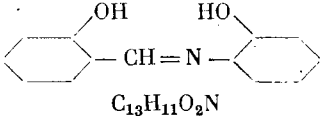
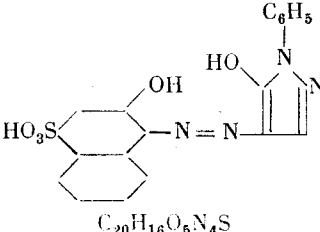
№ п/п	Наименование реактива	Формулы: структурная и эмпирическая	Определяемые элементы	Литература
12	Куркумин	 $C_{21}H_{20}O_6$	Ba, Mg	[15, 16]
13	Люмогалион ИРЕА 2,2',4'-триокси-5-хлор- 1,1'-азобензол-3-сульфо- кислота *	 $C_{12}H_8O_6N_2S1Cl$	Ga	[89—91]
14	Люминол *	 $C_8H_7O_2N_3$	Cu, H ₂ O ₂ и др.	[14]

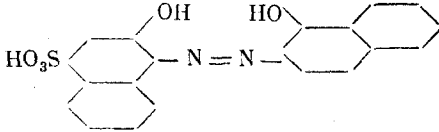
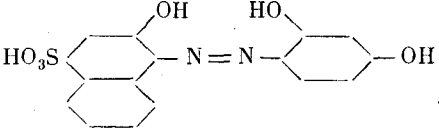
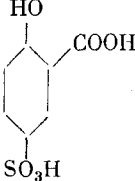
№ п/п	Наименование реактива	Формулы: структурная и эмпирическая	Определяемые элементы	Литература
15	Морин (3,5,7,2',4'-пента- оксифлавои)	 $C_{15}H_{10}O_7 \cdot H_2O$	Al Sb Pb, Se, Ge Cd Sn Th Zr In Ga Mo W, Ca, Sr Be Zn Sc	[16], [29], [65—67], [125] [15, 16], [29] [29] [9], [29] [29], [118—120] [18], [123] [15, 16], [29], [117] [29], [105, 106] [16], [18], [29], [100—103], [105] [130] [15, 16] [16], [22], [26—33] [29], [105], [106] [26], [105]
16	Датисцетин (3,5,7,2'-тетра- оксифлавои) * Знаменатель морина, пред- ложен ИРЕА. (Выпускается в виде эк- стракта).	 $C_{15}H_{10}O_6$	Al, Ga Zr, In и др.	[69]
17	β -метилумбеллиферон *	 $C_{10}H_8O_3$	P Ag	[43] [19, 20]

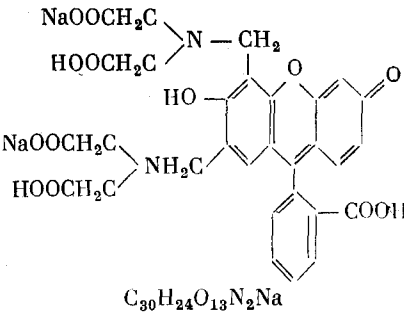
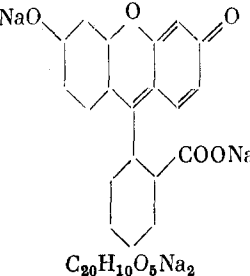
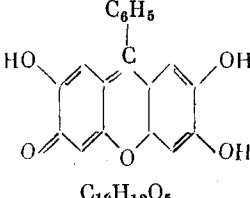
№ п/п	Наименование реактива	Формулы: структурная и эмпирическая	Определяемые элементы	Литература
18	α -нафтофлавоп (7,8-бензо- флавоп)	 $C_{19}H_{12}O_2$	Au, Fe Co, Ni Se, Cu	[15, 16]
19	6-нитро-2-нафтиламин-8- сульфокислота	 $C_{10}H_8O_5N_2S$	Sn	[121]
20	2,3-оксинафтойная кисло- та *	 $C_{11}H_8O_3$	Al	[92]
21	2-(o-оксифенил)-бензокса- зол *	 $C_{13}H_9O_3N$	Cd Cu	[42] [43]

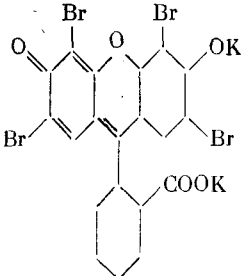
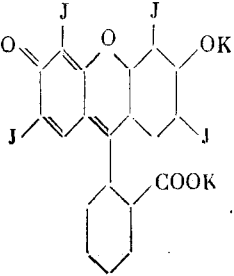
№ п/п	Наименование реактива	Формулы: структурная и эмпирическая	Определяемые элементы	Литература
22	2-(<i>o</i> -оксифенил)-бензотиазол	 $C_{13}H_9OSN$	Be	[34]
23	8-оксихинальдин *	 $C_{10}H_9ON$	Be	[25]
24	8-оксихинолин *	 C_9H_7ON	Li Na, K, Rb, Cs Mg, Ca, Be Zr In Sn Ga Al Zn Cd F	[1, 2] [9—11] [15, 16] [15, 16] [26], [29], [76], [104] [76], [120] [75], [79] [24], [62], [114], [70—73], [75—79] [8], [15, 16], [38, 39] [16], [39] [140], [142], [143]

№ п/п	Наименование реактива	Формулы: структурная и эмпирическая	Определяемые элементы	Литература
25	Пиридин *	 C_5H_5N	Cd, Pb	[15, 16]
26	Примулин *	 $C_{21}H_{14}O_3S_3N_3Na$	Cr Ag	[15, 16] [19, 20]
27	Резорцин *	 $C_6H_6O_2$	N	[124]
28	Родамин С * (прежнее название — ро- дамин В)	 $C_{28}H_{31}O_3N_2Cl$	W, Mn Co, Fe Tl Ga Sb	[15, 16] [18] [107, 108] [96—99] [15, 16], [29]

№ п/п	Наименование реактива	Формулы: структурная и эмпирическая	Определяемые элементы	Литература
29	Родамин 6-Ж*	 <p style="text-align: center;">$C_{26}H_{27}O_3N_2Cl$</p>	Ga	[99]
30	Салицилалазин*	 <p style="text-align: center;">$C_{14}H_{12}O_2N_2$</p>	Cu	[12, 13]
31	Салицилаль-о-аминофенол*	 <p style="text-align: center;">$C_{13}H_{11}O_2N$</p>	Al Ga	[85], [87], [88] [86]
32	Солохромовый красный	 <p style="text-align: center;">$C_{20}H_{16}O_5N_4S$</p>	Ga	[83]

№ п/п	Наименование реактива	Формулы: структурная и эмпирическая	Определяемые элементы	Литература
33	Солохромовый черный	 $C_{20}H_{14}O_5N_2S$	Ga	[83]
34	Сульфонафтазарезорцин*	 $C_{16}H_{12}O_6N_2S$	Ga	[84]
35	Сульфосалициловая кислота*	 $C_7H_6O_6S \cdot 2H_2O$	Ni	[16]
36	Уранил азотнокислый*	$UO_2(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$	Cl', Br', F', CN', CNS', S' As	[8], [16], [144] [16]
37	Уранил сернокислый*	$UO_2SO_4 \cdot 3H_2O$	Ag Tl	[16] [16], [109]
38	Уранил уксуснокислый*	$UO_2(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$	Li	[3]

№ п/п	Наименование реактива	Формулы: структурная и эмпирическая	Определяемые элементы	Литература
39	Флуороксон. Бис,—ди (карбоксиметил) аминометил-флуоресцеин	 <p style="text-align: center;">$C_{30}H_{24}O_{13}N_2Na$</p>	Ca Sr Ba	[126]
40	Флуоресцеин* (динатриевая соль)	 <p style="text-align: center;">$C_{20}H_{10}O_5Na_2$</p>	O ₂ F, Br Cr Ag	[133] [138], [145], [146] [15], [16] [19], [20]
41	Фенилфлуорон*	 <p style="text-align: center;">$C_{19}H_{12}O_6$</p>	В	[57, 58]

№ п/п	Наименование реактива	Формулы: структурная и эмпирическая	Определяемые элементы	Литература
42	Хинин сернокислый	$C_{20}H_{24}O_2N_2 \cdot H_2SO_4 \cdot 8H_2O$	Hg, Cr Te, Se SO ₃	[43] [15, 16] [8], [127, 128]
43	Эозин*	 $C_{20}H_6O_5Br_4K_2 \cdot 5H_2O$	P, Hg Ag	[43] [19, 20]
44	Эритрозин*	 $C_{20}H_6O_5J_4K_2 \cdot H_2O$	P	[43]

Б. ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В БИОЛОГИИ, БИОХИМИИ И ОРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

1. Биологически важные вещества

а) *Канцерогенные вещества.* Под этим названием объединяют ряд полиядерных ароматических соединений, в отношении которых установлено, что они могут действовать как возбудители рака [1].

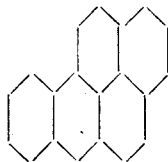
Соединения эти обладают ярко выраженной способностью флуоресцировать; их характерные спектры флуоресценции состоят из трех-четырех отдельных полос. Это их свойство помогло сравнительно быстро установить, что именно эти соединения являются активным началом, содержащимся в каменноугольных смолах и вызывающим профессиональный рак.

Вначале было обращено внимание на флуоресценцию самих смол и были исследованы их спектры флуоресценции (Майнорд, 1927 г.), а вслед затем Хигер, изучив флуоресценцию ряда полициклических углеводородов, показал, что спектр флуоресценции 1,2-бензантрацена аналогичен тому, какой наблюдается у канцерогенных смол; подвергнув 12 тонн каменноугольного пёка систематическому фракционированию, он выделил несколько граммов чрезвычайно канцерогенноактивного вещества, оказавшегося 3,4-бензпиреном *) (1933 г.).

Поскольку канцерогенные вещества обладают способностью флуоресцировать, напрашивалось предположение, что эти два свойства взаимно связаны. Известную аналогию этому можно усмотреть в явлении сенсibilизации некоторых реакций флуоресцирующими веществами**). По-видимому, однако, флуоресценция не является отражением свойств, специфических для канцерогенных веществ. Брюс (1941 г.) [2] сопоставляет флуоресценцию и канцерогенные свойства ряда производных метилхолантрена — вещества, являющегося одним из наиболее канцерогенных из числа всех синтезированных, и приходит к выводу, что между снижением канцерогенных свойств высших гомологов холантрена и их способностью флуоресцировать нельзя уловить параллелизм, если только сравнивать растворы в эквимолекулярных концентрациях.

Во всяком случае возможность использования флуоресцентных наблюдений для обнаружения канцерогенных веществ бесспорна [3], и применение для этого спектрально-люминесцентного метода теперь общепринято (ср. гл. V, стр. 60). Несмотря на дискретный характер спектров люминесценции этих веществ, надежная идентификация по ним отдельных

*) Структурная формула 3,4-бензпирена:



**) В этой связи интересны данные, приведенные в работах:

- 1) M. G. Feggi, Фотодеактивация флуоресцирующими веществами гормона растений — индолилуксусной кислоты, Nature 168, 334 (1951).
- 2) M. G. Feggi, R. Guidolin, Флуоресценция и фотоинактивация змеиного яда, Science 113, № 2933, 300 (1951).
- 3) Э. Я. Граевский, Г. К. Очинская, М. В. Шаак, К вопросу о природе фотодинамического процесса, Журн. общ. биол. 13, 211 (1952).

углеводородов представляет трудности из-за сходства спектров некоторых из них, а также из-за относительно большой ширины спектральных полос, что обуславливает возможность их перекрытия. В настоящее время эти трудности успешно преодолеваются. Ильиной [4] детально разработана методика обнаружения 3,4-бензпирена, сильно канцерогенного углеводорода, часто встречающегося даже в пищевых продуктах. Ею было применено замораживание растворов исследуемых веществ в парафиновом масле. Наиболее интенсивная полоса в спектре бензпирена (4035 Å) начинает проявляться при концентрации $10^{-3}\%$, а при концентрации $5 \cdot 10^{-3}\%$ становятся заметными и следы полосы 4320 Å. При условиях наблюдения, примененных Ильиной, полосы в спектре люминесценции сужены и выявляются особенно отчетливо; тем самым значительно повышается чувствительность анализов. Дальнейшее усовершенствование метода осуществляется Дикунном [5]. У анализировавшихся им замороженных при -196°C (77°K) гексановых растворов спектры люминесценции были квазилинейчатыми, и он надежно идентифицировал бензпирен по длинам волн главных линий спектра. До замораживания вещества подвергались хроматографированию. Богомолов применил этот же метод для анализа дыма из заводских труб; по его данным бензпирен можно было обнаружить даже при концентрации 10^{-9} г/г [6]. Ранее Томсоном [7] спектрально-люминесцентным методом было показано, что в смолистых веществах, выделенных из дымовых газов, содержание бензпирена не превышало 10^{-5} г/г. Обнаружены следы бензпирена и в экстрактах типографской краски из газет.

В работе [8] сообщается о выделении бензпирена и других канцерогенных углеводородов из остатков выкуренных папирос. Канцерогенные углеводороды обнаружены в морских «уточках» (отряд усоногих), которые живут, прикрепляясь ко дну кораблей, утесам и т. д.; показано, что углеводороды попадают в животное извне, случайно, а не являются продуктами метаболизма [9]. Описан интересный факт уничтожения хиноном и канцерогенных свойств, и способности люминесцировать у растворов бензатрена и метилхолантрена [10]. Люминесцентно-спектрографические определения (на фотоэлектрическом фотометре) использованы для изучения степени канцерогенной активности различных углеводородов, а также их судьбы в живом организме [11]; на подопытных животных показано, что только сильно канцерогенные углеводороды длительно, на 3—3,5 месяца, сохраняются под кожей в области инъекции.

В работе [12] описаны опыты, произведенные на мышах, которым вводили антрацен. Оказалось, что и этот углеводород канцерогенен, но латентный период у него очень длителен, достигает 27—29 месяцев. Отмечается, что в табачном пёке (Tabaktee) найден антрацен; это первое обнаруженное здесь канцерогенное вещество.

б) *Эстрогенные вещества.* Эстрогенные вещества, половые гормоны, представляют биологически важную группу соединений с конденсированными ароматическими ядрами. Многие из них обладают способностью флуоресцировать и для их определения тоже используют прием I. Свечение соединений этой группы лежит в большинстве случаев в коротковолновой части видимого спектра, и при измерениях интенсивностей свечения для количественных определений пользуются фотоэлектрическим фотометром. В некоторых случаях проводят дополнительные реакции.

Ф о л л и к у л и н. При растворении фолликулина в спирте получают растворы, флуоресцирующие сине-фиолетовым светом. При стоя-

нии и особенно при освещении интенсивность видимого свечения увеличивается, а цвет флуоресценции изменяется и становится сине-зеленым. В щелочном растворе повторяется та же картина, причем превращение вещества, флуоресцирующего сине-фиолетовым светом, в вещество с сине-зеленым свечением протекает много быстрее.

Чтобы проследить это превращение и выяснить флуоресцентным методом его причину, мы фотографировали спектры свечения фолликулина

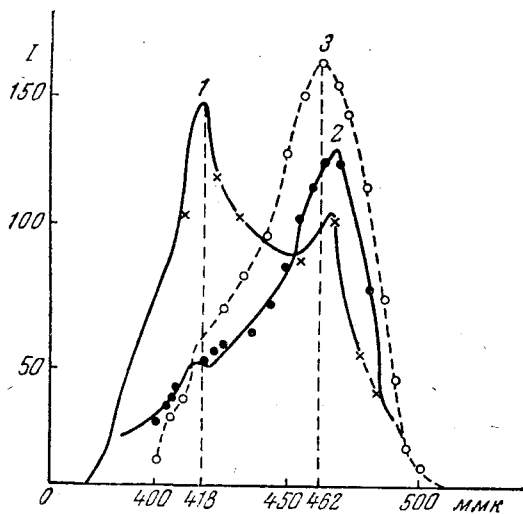


Рис. 54. Микрофотограммы спектров флуоресценции воднощелочных растворов фолликулина.

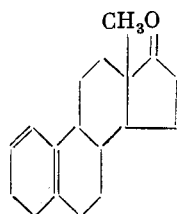
на отдельных стадиях его превращения [13] и для каждого снятого спектра установили, при какой длине волны лежит максимум почернения на негативе спектра, а равным образом, как почернение спадает в сторону больших и меньших длин волн. Сопоставление кривых почернения, полученных фотометрированием, показывает, что максимумы и в спиртовом и в щелочном растворах лежат для одного вещества около 420 ммк, для другого — около 465 ммк. О течении самого превращения дают представление три кривые, приведенные на рис. 54. Они показывают, что распределение интенсивностей в спектре флуоресценции одного и того же щелочного раствора фолликулина постепенно изменяется при его засвечивании в

течение различных периодов времени (максимально 6, 5 час). На кривой 1 присутствие второго вещества уже проявляется: при длине волны 465 ммк, отвечающей максимуму его флуоресценции, ясно виден «горб»; на кривой 2 мы обнаруживаем следы первого вещества по «горбику» при длине волны максимума первой кривой. Это обозначает, что первое вещество почти полностью превращено во второе. При дальнейшем освещении «горбик» становится еще меньше и, как видим, почти совершенно сглажен на кривой 3.

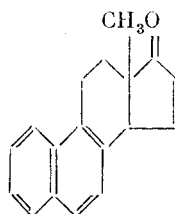
Эти наблюдения дают основание для предположения, что описанное превращение не связано с разрывом основного скелета гормона и обуславливается более поверхностным изменением молекулы в результате ее окисления.

Увеличение в молекуле числа сопряженных двойных связей ведет всегда, как указывалось выше (гл. IV), к перемещению спектров как абсорбции, так и флуоресценции к красному концу. В отношении самого фолликулина — соединения, не имеющего сопряженных связей иных, кроме как в бензольном ядре, — представляется мало вероятным, чтобы какой-либо из его изомеров мог флуоресцировать в растворе сине-зеленым светом. Наоборот, у эквиленина, производного нафталинового ядра, естественно ожидать именно такое свечение, так как флуоресценция самого нафталина по сравнению с бензолом значительно смещена в сторону длинных волн.

Структурные формулы:



Фолликулин



Эквиленин

Таким образом, представляется весьма вероятным, что изменение цвета флуоресценции фолликулина обуславливается его окислением в эквиленин. Последний обладает значительно пониженной, по сравнению с фолликулином, биологической активностью. Этому вполне соответствуют данные относительно активности щелочных растворов фолликулина, флуоресцирующих зеленоватым светом.

Таким образом, первый прием флуоресцентного анализа в применении к фолликулину может быть использован не только для количественных определений, но и как чрезвычайно тонкий метод для обнаружения изменений, претерпеваемых гормоном.

В [14] авторы описывают разработанный ими метод определения концентрации эстрогенных веществ, пригодный для проверки продажных препаратов: эстрона в масле, водных суспензий эстрона и таблеток эстрадиола. Концентрацию они определяют по интенсивности флуоресценции растворов эстрогенных веществ в серной кислоте. При стоянии интенсивность свечения некоторых эстрогенных веществ остается без изменения. Это позволяет учитывать влияние примесей [15].

В [16] приводятся данные для пятнадцати эстрогенных веществ, характеризующие их флуоресценцию, их абсорбцию в ультрафиолетовой области спектра и их коэффициенты распределения в системах 50%-ный водный метиловый спирт — четыреххлористый углерод. В применявшихся условиях наблюдения только эстрон, эстрадиол $C_{17} \alpha$, эстрадиол $C_{17} \beta$ и эстриол обладали яркой флуоресценцией.

Для количественного определения эстрогенных веществ использована реакция их конденсации с фталевым ангидридом в присутствии $ZnCl_2$, играющего роль катализатора [17]. При решении практически важной задачи количественного определения содержания эстрогенных веществ в моче возникают трудности в связи с тем, что в ней содержатся как флуоресцирующие, так и тушащие примеси. Разработаны методы отделения от них эстрогенных веществ [18], [19], предложена реакция с использованием фосфорной кислоты [20], выяснены условия, при которых эта же реакция — появление люминесценции при взаимодействии с фосфорной кислотой — может быть с успехом применена для количественного определения кортикостероидов [21]. Разработан адсорбционный метод выделения флуоресцирующего гормона фолликулина [22]. Описана реакция на стероиды с использованием *p*-толуол-сульфоновой кислоты [23].

в) *Антибиотики*. Разработаны методы количественного определения тетрамицина [24], [25] и ауреомицина [25] по интенсивности их люминесценции в спиртовых растворах. Оба антибиотика извлекают бутиловым спиртом из их щелочных растворов. Свечение ауреомицина достигает максимальной интенсивности при $pH=7,5-8$, а тетрамицина — при $pH=9-10$.

Отмечается, что параллельно с потерей биологической активности (хемиотерапевтического действия) изменяются и флуоресцентные свойства: желтый цвет флуоресценции переходит в синий у ауреомицина и в зеленоватый у тетрациклина; надо думать, что это связано с изменением структуры их молекул. В 1957 г. для количественного определения ауреомицина использована его деградация щелочью [26]. В работе [27] описан флуоресцентный метод количественного определения ауреомицина в крови и моче. Для обнаружения стрептомицина в количествах порядка 1 γ /мл

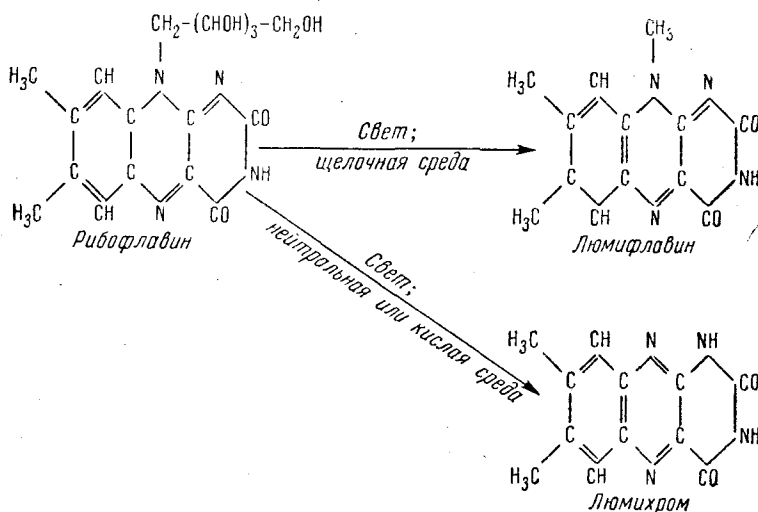


Рис. 55. Превращение рибофлавина.

описан косвенный метод, основанный на вытеснении стрептомицином аурамина из флуоресцирующего комплекса аурамин-нуклеиновая кислота [28].

г) *Витамины*. Из числа витаминов яркой флуоресценцией обладает витамин В₂ (рибофлавин или прежнее название лактофлавин). Его нейтральные растворы в воде и спирте флуоресцируют желто-зеленым светом; полоса флуоресценции лежит в области 515—613 *м.м.к* с максимумом при 535 *м.м.к*. Флуоресценция тушится прибавлением кислот и щелочей.

Для витамина В₂ характерны легко претерпеваемые им химические изменения, сопровождающиеся изменением его флуоресценции. Так, рибофлавин (6,7-диметил-9-*d*-рибитол-изоаллоксазин) при его освещении в щелочном растворе отщепляет 4 атома боковой цепи и переходит в 6,7,9-триметилизоаллоксазин, называемый люмифлавином (рис. 55). Фотохимическая реакция в нейтральной или кислой среде протекает иначе: от рибофлавина отщепляется боковая цепь целиком и образуется люмихром (6,7-диметилаллоксазин)—соединение, бесцветное в нейтральной и кислой среде и обладающее в водном, спиртовом и хлороформном растворах типичной флуоресценцией небесно-голубого цвета.

При восстановлении флавинов гидросульфитом или цинком в кислой среде они переходят в лейкофлавины — соединения, бесцветные и не обладающие способностью флуоресцировать; при встряхивании происходит окисление кислородом воздуха и обратный переход во флавин.

Все эти свойства рибофлавина использованы в различных комбинациях в методах, предложенных для количественного его определения [29]. Обычно ничтожно малые количества витамина B_2 приходится определять в многокомпонентных системах в различных пищевых продуктах, в биологических средах, например, в моче, в тканях растений; этим задача определения витамина существенно осложняется. По-видимому, в настоящее время удалось в достаточной мере успешно преодолеть указанные трудности. Следует помнить, что методики, разработанные для определения рибофлавина в одном виде сырья, например муке, не могут быть безоговорочно перенесены на другие исходные вещества, так как всегда может оказаться, что в них присутствуют следы каких-то флуоресцирующих веществ, которые окажутся не принятыми во внимание.

Как уже указывалось, методы люминесцентного анализа становятся экспресс-методами только после того, как они тщательно разработаны и проверены в лабораторных условиях. Упрощение метода достигается лишь постепенно.

Эволюция флуоресцентной реакции на витамин B_2 является хорошей иллюстрацией этого утверждения. Первоначально методы определения рибофлавина слагались из следующих операций: рибофлавин из растительного сырья, из кормов, из муки переводили в водный раствор, затем адсорбировали (сернистым свинцом по Поволоцкой; другие адсорбенты — фуллерова земля, франконит); из адсорбата элюировали пиридином; в полученном растворе содержание витамина определяли по интенсивности флуоресценции голубого цвета.

Для определения рибофлавина в пшенице и продуктах из нее Гоффер, Алкок и Геддес [30] предложили упрощение метода: рибофлавин извлекают из 0,5 г исследуемого материала 25%-ным раствором хлористого калия в 2%-ной уксусной кислоте и содержание его определяют по интенсивности свечения раствора. Согласно указанию авторов их методика позволяет сократить время единичного определения до 60—70 мин. Метод пригоден и для определения витамина B_2 в сухом молоке, но неприменим к зеленым растениям.

В другой работе [31], озаглавленной «Некоторые факторы, влияющие на флуорофотометрическое определение рибофлавина», авторы подчеркивают необходимость учитывать, что с увеличением навески извлечение рибофлавина становится неполным.

Для определения витамина B_2 в молоке предложен следующий упрощенный способ [32]: 15 мл 10% треххлоруксусной кислоты прибавляют к 10 мл молока; после часового стояния смесь центрифугируют. 10 мл полученной жидкости нейтрализуют и разбавляют настолько, чтобы было удобно определять концентрацию путем сравнения интенсивности флуоресценции полученного раствора и стандартного. Автор указывает, что концентрация витамина в конечном растворе должна быть меньше 0,12 мг/л.

По данным Гансона [33], интенсивность свечения рибофлавина пропорциональна его концентрации вплоть до содержания витамина 30 γ /мл ($3 \cdot 10^{-5}$ г/мл); в качестве стандарта следует брать раствор именно такой концентрации, а не содержащий 50 γ /мл, как предлагалось раньше.

По данным Ганда [34], содержание рибофлавина в молоке удобно определять путем сравнения интенсивностей свечения ацетоновой вытяжки из молока, в которую переходит витамин B_2 , и кубика из стекла, содержащего уранил; флуоресценцию последнего заранее градуируют по растворам рибофлавина определенной концентрации. Таким образом, в этом приеме использован упрощенный метод выделения рибофлавина; кроме

того, для установления интенсивности флуоресценции применен стандарт, не изменяющийся со временем или под влиянием фотохимических реакций; самые измерения проводятся объективным методом при помощи фотоэлемента. Очевидно, что в такой форме метод становится типичным экспресс-методом, который позволяет удовлетворить практическую потребность в оценке содержания витамина в различных пробах молока.

Елисеевой [35] описан упрощенный метод определения малых количеств рибофлавина в моче, основанный на измерении интенсивности флуоресценции рибофлавина в водных растворах. Для внесения поправки на флуоресценцию примесей автор предлагает разрушать рибофлавин фотохимическим путем, а именно облучением ртутной лампой ПРК-2 без светофильтра.

В [36] люмилавиновый метод определения рибофлавина в растениях подвергается тщательной экспериментальной проверке. Измерениями яркости свечения хлороформных растворов кристаллического люмилактофлавина показано, что определение его содержания еще вполне надежно при концентрации 0,05 γ /мл. По сравнению с абсорбционным методом флуоресцентный обладает в 20 раз большей чувствительностью, потери витамина при облучении его щелочных растворов всегда одинаковы. Метод более специфичен, присутствие примесей в меньшей мере сказывается на результатах. Так, в вытяжке из салата содержание витамина, найденное абсорбционным методом, было больше определяемого флуоресцентным методом. Однако по мере удаления примесей содержание, найденное по поглощению, все время снижалось и в конце концов стало равным найденному по флуоресценции. Люмилактофлавин для приготовления стандартного раствора был получен облучением кристаллического лактофлавина; точную концентрацию стандартного раствора определяли по его абсорбции.

В и т а м и н В₁ (а н е в р и н и л и т и а м и н). Витамин В₁ сам по себе не флуоресцирует; его щелочные растворы легко подвергаются окислению, причем из витамина В₁ образуется соединение желтого цвета — тиохром, обладающее в воднощелочной среде яркой флуоресценцией синего цвета; максимум интенсивности свечения лежит при 460—470 мк. Для выделения тиамина, например, из биологических жидкостей применяют кислый адсорбент — фуллерову землю; на кислых адсорбентах В₁ в кислой среде устойчив.

При люминесцентном методе определения витамина В₁ [37] водную вытяжку, содержащую витамин в щелочном растворе, окисляют красной кровяной солью $K_3Fe(CN)_6$, при этом образуется флуоресцирующий тиохром; его извлекают из реакционной смеси изобутиловым спиртом и по интенсивности флуоресценции определяют содержание витамина В₁. При этом методе существенно брать для окисления именно нужное количество красной кровяной соли: избыток окислителя, равно как его недостаток, приводят к ошибочным результатам.

Ясно, что все ранее сказанное относительно необходимой тщательности работы в полной мере относится к измерениям интенсивности флуоресценции тиохрома. Как и для рибофлавина, предложены стеклянные стандарты [38]: один для дозировки растворов, содержащих 0,5 γ /мл, другой для растворов концентрации 1,0 γ /мл. Метод с успехом применяется для определения витамина В₁ в биологических жидкостях. Работа Сток [39] посвящена уточнению методики определения витамина В₁ при использовании для измерений интенсивности свечения фотоэлектрического фотометра. Рекомендуются готовить стандартный раствор из сульфата хирина. Подчеркивается необходимость учитывать склонность кри-

таллов последнего терять кристаллизационную воду. Отмечается, что раствор сульфата хинина концентрации 0,01 г в 100 мл 0,1 н серной кислоты служит исходным, стандартный же раствор готовят стократным разбавлением исходного. Дается упрощенный метод пересчета показаний фотометра на концентрацию витамина.

Интересен опубликованный в 1951 г. доклад подкомитета [40], специально выделенного в США для проведения работы по уточнению тиохромного метода в применении к определению витамина B_1 в злаках и хлебных продуктах, в солоде, дрожжах, мясе и продуктах из них. В докладе сопоставляются результаты анализов одиннадцати различных лабораторий. Установлено, что очистка адсорбцией на обменном силикате дает лучшие результаты, чем отмывание изобутиловым спиртом, что окисление следует проводить заранее приготовленной смесью щелочи и красной кровяной соли, а не добавлять их раздельно, что для отделения тиохрома лучше применять изобутанол, насыщенный водой, а не сухой, что получаемые результаты целесообразно проверять методом добавления навески аневрина к исходному экстракту для проверки потерь в процессе анализа и что для конечного определения содержания аневрина предпочтительно пользоваться непосредственным пересчетом на интенсивность флуоресценции тиохрома, а не калибровочной кривой. Отмечается, что степень точности метода неодинакова в применении к различным продуктам. Предложен новый количественный метод определения витамина B_1 , основанный на измерении интенсивности флуоресценции соединения, образующегося при взаимодействии витамина с бромистым цианом [41].

В ряде работ исключительная чувствительность тиохромного метода использована для решения вопросов биохимического характера.

В работе Елисейевой он применен для определения витамина в моче, крови и тканях [42]. Для устранения мешающего действия флуоресцирующих примесей автор рекомендует обрабатывать исследуемый объект соляной кислотой (при нагревании) и проводить извлечение тиохрома изобутанолом; предложен метод осаждения белков, почти полностью устраняющий потери тиамин при удалении белков.

Островский [43] для определения витамина B_1 в крови остроумно применил метод, аналогичный предложенному Розенталь для определения адреналина: испытуемый раствор добавляют к раствору окислителя $K_2Fe(CN)_6$; минимальная концентрация витамина, при которой еще заметна флуоресценция на границе двух слоев, 0,01 γ в мл. Определяя разбавление, при котором свечение еще появляется, находят содержание витамина (ср. гл. VI).

Запрудская [44] модифицированным тиохромным методом определяет содержание витамина B_1 в участках нервной системы (на кошках и кроликах). Мягкое окисление витамина B_1 в тиохром осуществимо, по-видимому, в тканях и без его извлечения; благодаря этому оказывается возможным следить за локализацией витамина. Так, Мюлар [45] считает возможным наблюдать в нервных тканях флуоресценцию тиохрома, образующегося при окислении; на основании проведенных наблюдений он приходит к определенным выводам относительно локализации витамина.

Продолжаются работы по уточнению методов определения витаминов B_1 и B_2 [46] в многокомпонентных системах.

Никотиновая кислота и ее производные. Флуоресцентные наблюдения были широко использованы Найром с сотрудниками в целях выяснения, что именно собой представляет флуоресцирующее вещество F_2 , выделение которого человеческим организмом находится в связи

с принятием никотиновой кислоты; выделение этого вещества не наблюдается у больных пеллагрой и у животных, больных black tongue. Авторы показывают, что F_2 не может быть амидом метилникотиновой кислоты, синтезированным Гуффи и Пертрум, так как растворы этих соединений не обладают флуоресценцией.

На основании сопоставления флуоресценции производных амида никотиновой кислоты и на основании ряда других соображений авторы приходят к выводу, что F_2 , получаемый из элюатов (из мочи) после обработки щелочью и бутиловым спиртом, представляет собой бутиловый эфир амида α -карбинола метилникотиновой кислоты [47].

Флуоресцирующим веществам, выделяемым с мочой в связи с принятием никотиновой кислоты, посвящен и ряд других работ [48].

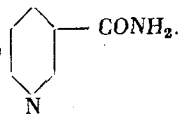
В [49] описан количественный люминесцентный метод определения N' -метилникотинамида как одного из главных продуктов метаболизма никотиновой кислоты. Метод основан на получении флуоресцирующих продуктов взаимодействия с кетонами.

Черкес [50] люминесцентным методом путем визуального сравнения со стандартом определял содержание N' -метилникотинамида в моче морских свинок. Показано, что организм голодающих морских свинок приобретает способность амидировать*) никотиновую кислоту.

В и т а м и н А. Провитамин А, каротин, из которого путем расщепления образуется витамин А, обладает флуоресценцией желто-зеленого цвета. Согласно данным ряда авторов, витамин А ни в растворе, ни в свободном состоянии не флуоресцирует. Тем не менее имели место попытки определять содержание витамина А в жирах и животных тканях на основании наблюдений их флуоресценции [51].

Работы Сobotка с сотрудниками, относящиеся к 1943—1944 гг., выясняют до некоторой степени вопрос о возможности определения витамина А люминесцентным методом [52]. Согласно данным этих авторов, эфиры витамина А при облучении ультрафиолетовым светом начинают флуоресцировать под влиянием протекающей при этом фотохимической реакции. Интенсивность флуоресценции вначале возрастает, затем при дальнейшем облучении начинает спадать, и в конечном счете свечение гаснет, очевидно, тоже в результате фотохимической реакции, но уже иной. В полярных растворителях (спиртах) витамин А, подобно его эфирам, при засвечивании ультрафиолетовым светом обнаруживает сначала возрастание флуоресценции, а затем полное ее исчезновение. В растворителях слабо полярных — в эфире, хлороформе, бензоле — наблюдается незначительное снижение флуоресценции витамина А, если его облучать ультрафиолетовым светом; при хранении в темноте интенсивность флуоресценции остается постоянной. Авторы считают, что в пределах концентраций 0,1—5,0 мг/мл интенсивность флуоресценции раствора пропорциональна содержанию витамина. Просасыванием азота или углекислого газа через раствор витамина А можно снизить концентрацию кислорода в нем; при этом уменьшается спад интенсивности свечения. Сobotка и его соавторы приводят спектры абсорбции флуоресцирующего продукта, получаемого из витамина А при его облучении ультрафиолетовым светом, и высказывают предположения относительно его химической природы. Таким образом, по-ви-

*) Т. е. переводить никотиновую кислоту в ее амид, в соединение



димому, и витамин А можно определять флуоресцентным методом, а именно приемом вторым, т. е. по флуоресценции не самого витамина, а продукта его окисления, получаемого при фотохимической реакции.

В работе 1952 г. Петровская [53] обнаруживает витамин А в глазу крысы по его люминесценции зеленого цвета, наблюдаемой в пигментном эпителии сетчатки глаза, но только после адаптации на темноту.

Количественным люминесцентным методом можно определять и витамин фолиевую кислоту; в работе Андреева и Букина описана соответствующая методика [54].

Предложен метод количественного определения витамина Е (токоферола) по люминесценции его производного феназина, который получают в результате проводимых реакций [55]. Люминесцентный анализ применим также к витамину В₆ (пиридоксину [56]), витамину В₁₂, а также, судя по японским работам, к витамину С, к некоторым энзимам [57], к пиридиннуклеотидам [58] и т. д. Описание применяемых у нас люминесцентных методов определения витаминов дано в книге [59], посвященной биохимическим определениям.

д) *Порфирины*. Среди биологически важных веществ, обладающих способностью флуоресцировать, одно из первых мест принадлежит группе порфиринов. Спектры их флуоресценции хорошо изучены (приложение II, стр. 367) [60]; они лежат в красной части спектра и представлены тремя-четырьмя отдельными полосами, по своему положению в спектре почти совпадающими у различных порфиринов. В отличие от гематопорфирина, гемоглобин не флуоресцирует; однако, если из его молекулы «вырвать» железо (например, действием концентрированной серной кислоты), то разгорается характерная яркая флуоресценция красного цвета. Поскольку порфирины обладают основными свойствами, флуоресценция их претерпевает изменения при увеличении концентрации водородных ионов; как видно из приложения II, в кислом растворе все полосы смещены в сторону более коротких длин волн. Сходство спектров флуоресценции отдельных порфиринов затрудняет их идентификацию непосредственно по флуоресценции.

Остроумный метод разработал Финк [61]. Он идентифицировал отдельные порфирины из биологических жидкостей путем сравнения характерных для них кривых зависимости яркости флуоресценции от рН (рис. 56). Этот метод целесообразно применять в тех случаях, когда проводятся повторные анализы, в клинических условиях.

Различными авторами предложены методы обнаружения порфиринов по их флуоресценции в патологических случаях [62], описано хроматографическое разделение и определение по люминесценции различных порфиринов [63], в частности копропорфирина [64] (см. гл. XVI, стр. 299).

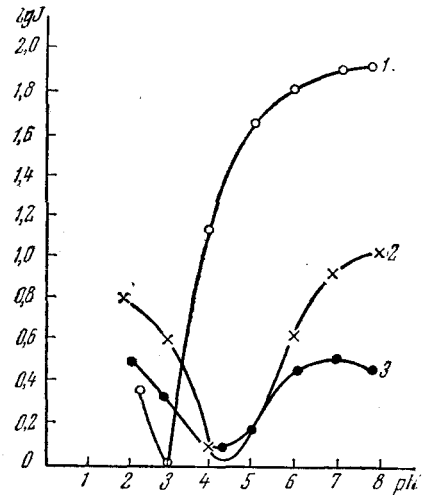


Рис. 56. Кривые изменения интенсивности флуоресценции с изменением рН для различных порфиринов (по цифровым данным Дере):

1 — гематопорфирин; 2 — изоуропорфирин; 3 — уропорфирин.

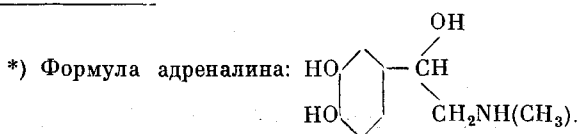
е) *Адреналин*. Люминесцентный метод определения адреналина в крови находит теперь широкое применение и ему посвящено большое число работ.

Как и следует ожидать, соединения с химической структурой адреналина *) не обладают в видимой части спектра флуоресценцией; наблюдаемое едва заметное свечение молочно-синего цвета обусловлено, вероятно, примесями.

Однако в щелочном растворе адреналин флуоресцирует очень ярко, желто-зеленым светом. Если щелочной раствор адреналина готовить в атмосфере азота и на воде, из которой кипячением в атмосфере индифферентного газа удалены следы кислорода, то такой раствор не флуоресцирует. Яркая флуоресценция щелочного раствора адреналина обуславливается продуктами его окисления; это свечение можно использовать для определения концентрации раствора. Однако реакция окисления не останавливается на первой стадии, и в процессе дальнейшего изменения раствор перестает флуоресцировать. Этим свойством адреналина существенно осложняется количественное его определение по интенсивности свечения. Адреналин в концентрированной (приблизительно 25%) щелочи проявляет иное отношение к кислороду: вторая стадия окисления настолько замедлена, что становится возможным использовать измерения яркости флуоресценции растворов для суждения о содержании в нем адреналина. При этом необходимо, чтобы пробирки с анализируемым, а тем более с эталонным растворами были хорошо закрыты пробками.

Ошибки определения при таком простейшем методе [65] достигают 5—10%; следует, однако, учесть, что при применявшихся концентрациях раствора адреналина относительная ошибка в 10% составляет всего 1 μ , что соответствует тому количеству адреналина, какое содержится в десятых долях одной капли исходного препарата (1 : 1000). Ясно, что такое количество вещества вообще не улавливается биологическим методом. При всем том данный метод дозировки адреналина не свободен от недостатка, каким страдают и химические методы, а именно не исключена возможность, что при окислении во флуоресцирующее соединение переходят те химически весьма сходные с адреналином примеси, которые являются биологически неактивными или обладают известной токсичностью. Ясно, что корреляция, найденная между яркостью флуоресценции и концентрацией исходного раствора, не исключает указанной возможности.

Окисление протекает сравнительно медленно в растворах адреналина в спирте при концентрации порядка $5 \cdot 10^{-5}$ г/мл и содержании NaOH примерно пятикратном по весу по сравнению с адреналином. Ход кривой нарастания и потом спада яркости свечения легко измерить путем сравнения со свечением раствора эталона, например эозина. Максимальная интенсивность свечения сохраняется сравнительно длительный период времени (порядка десяти минут). У растворов разных концентраций, но приготовленных из одного и того же исходного препарата адреналина, наблюдаются интенсивности свечения в максимуме пропорциональные концентрации раствора. Такая зависимость не самоочевидна, так как максимальная интенсивность флуоресценции отображает то состояние наблюдаемой системы, при котором скорость образования адреналина (флуоресценцию которого мы наблюдаем) равна скорости его последующего



изменения. Для проверки возможности использовать описываемый люминесцентный метод для стандартизации выпускаемых препаратов адреналина были измерены кривые «яркость — время» для препаратов (ампул) адреналина заведомо разного качества: адреналина 1938 г. в ампулах желтого стекла, 1941 г. в бесцветных ампулах, адреналина 1948 г., любезно предоставленного нам мясокомбинатом, и адреналина из ампул, купленных в аптеке (1949 г.). Сопоставление полученных кривых показало, что максимум интенсивности флуоресценции для адреналина 1949 г. лежит много выше, чем для всех остальных, что адреналин 1938 г. в ампуле желтого стекла разложился меньше, чем препарат 1941 г., и что нарастание интенсивности свечения протекает у недоброкачественных препаратов быстрее, чем у хороших. По-видимому, продукт окисления в начальной стадии играет роль катализатора дальнейшего процесса. На это указывал и Утевский с сотрудниками. Для суждения о возможности замены дорогостоящего биологического метода стандартизации препаратов люминесцентным методом необходимо провести параллельно стандартизацию препаратов адреналина обоими методами.

Люминесцентный метод определения адреналина в крови связан со специфическими трудностями [66], делающими эти определения довольно сложными. Упрощенный быстрый полуколичественный метод предложен Розенталем [67], [68]: в пробирку наливают около 1 мл исследуемой жидкости и подслаивают примерно такой же объем водной смеси из 4 объемов насыщенного раствора хлористого натрия и 1 объема 30%-ного раствора едкого натра. Наличие адреналина устанавливают по флуоресценции пограничного слоя, отчетливо выявляющейся, когда на пробирку падает сходящийся горизонтально направленный пучок ультрафиолетовых лучей; наблюдения проводят через 1—2 минуты после подслаивания. Для количественного определения содержания адреналина устанавливают предельное разбавление, при котором еще получается флуоресцирующее зеленоватое кольцо в пограничном слое (см. гл. VI, стр. 90). Для ампулированных растворов адреналина (1 : 1000) предельное разбавление найдено равным 1 : 200 000 000, что соответствует концентрации 0,005 γ /мл; следовательно, при предельном разбавлении исследуемых биологических жидкостей содержание адреналина и в них такое же. Для определения адреналина в крови целесообразно исследовать сыворотку, разбавляя ее в два или три раза дистиллированной водой или лучше 1%-ным раствором борной кислоты; нормальное содержание адреналина в крови найдено равным 0,03 γ /мл. Наблюдения люминесценции используют для изучения процессов окисления адреналина и его производных [69], для раздельного определения адреналина и норадреналина [70], а также артернола [71].

Для большинства рассмотренных биологически важных веществ и для многих других применен также метод бумажной разделительной хроматографии с использованием наблюдений люминесценции, для обнаружения «пятен» компонентов анализируемого объекта (см. гл. V, стр. 63). Так, этим путем определено содержание флуоресцирующих компонентов — рибофлавина, фолиевой кислоты и др. в мальпигиевых сосудах и крови гусеницы шелкопряда [72], а также их химические изменения при болезнях шелкопряда [73]; установлено, что большая часть витамина В₁ выделяется человеком в виде аневринкарбоновой кислоты [74]; исследованы продукты метаболизма триптофана из кусочков печени крыс [75]; уточнено содержание в моче и форма выделения порфиринов [76], а также 4-пиридоксильной кислоты [77], 2-5-диоксибензойной кислоты [78] и желчных

кислот [79]. Метод хроматографирования на бумаге применен для обнаружения присутствия адреналина (10 мг и меньше) [80], для изучения производных никотиновой кислоты [81], аденозин фосфорных кислот [82], аминокислот [83] и т. д.

Мы рассмотрели основные группы биологически важных веществ, для качественного и количественного определения которых разработаны методы химического люминесцентного анализа.

Данные, приведенные нами в этом разделе, отчетливо показывают, насколько эффективным оказался метод химического люминесцентного анализа. Это видно и из обзора работ по люминесцентному анализу за 1955—1957 гг. [84].

В процессах обмена веществ, протекающих в живом организме, значительная роль принадлежит именно тем веществам, которые присутствуют в минимальных дозах; на изучение их обращено за последние десятилетия серьезное внимание. При выделении таких веществ обычными методами химического анализа для их изучения и идентификации химик вынужден перерабатывать большие количества сырья, а интересующие вещества не только подвергать химическим воздействиям, но нередко даже переводить в новые соединения.

При использовании методов люминесцентного анализа во многих случаях для обнаружения и исследования флуоресцирующего вещества достаточно чрезвычайно малые его количества. Кроме того, в ряде случаев отпадает необходимость подвергать изучаемое или искомое вещество химическим воздействиям. Не случайно, что первые шаги по использованию флуоресценции для целей анализа сделаны именно биологами [85].

Первые работы относятся ко времени, когда само явление люминесценции представляло еще много загадочного, а технические возможности проведения анализа были весьма ограниченными и несравнимыми с теми, какими располагает современная биохимия и медицина. Надо думать, что в недалеком будущем медики и биохимики оценят специфические особенности и возможности химического люминесцентного анализа и начнут применять его более широко и с большим успехом.

2. Отравляющие вещества в воздухе

За последние годы с помощью химического люминесцентного анализа пытаются обнаруживать в воздухе сублетальные дозы отравляющих веществ, а именно фосфорорганических, типа $R \cdot R' O \cdot PO \cdot F$ и $(R_2N)R' O \cdot PO \cdot F$. В 1957 г. предложен метод, основанный на использовании реакции, протекающей только в присутствии сарина и других фосфорорганических веществ («нервных газов»), а именно реакции окисления перборатом ($NaBO_2 \cdot H_2O_2$) индола в ярко люминесцирующее белое индиго [86].

Эта же реакция использована в 1958 г. для автоматической сигнализации заражения воздуха. В [87] описан разработанный для этого прибор и подробно изучены факторы, влияющие на течение реакции (на интенсивность возникающей люминесценции). Ускоряющее действие «нервных газов» на реакцию окисления перекисью водорода или перборатом играет решающую роль и в предложенной хемилюминесцентной реакции с люминолом (см. гл. IX): в присутствии «нервных газов» его хемилюминесценция разгорается и в отсутствии красной кровяной соли; по-видимому, каталитическое действие обуславливается связями $P-CN$ и $P-F$ [88].

Для обнаружения цианистого водорода, образующегося при гидролизе табуна $[(CH_3)_2N-PO_{OC_2H_5}-CN]$, рекомендован реактив: амид никотиновой

кислоты с добавкой хлорамина (благодаря последнему HCN переходит в хлористый циан); следы табуна обнаруживаются по возникающей флуоресценции реактива [89]. В работе 1958 г. концентрация цианидного и сульфидного анионов определяется по интенсивности флуоресценции, обнаруживаемой в растворе, когда в присутствии соли магния с указанными анионами взаимодействует реактив — комплекс 8-окси-5-хинолин-сульфоная кислота — палладий: палладий вытесняется указанными анионами и образуется люминесцирующий комплекс магния [90].

В заключение главы приводим описание люминесцентных реакций, предложенных за последние десятилетия для ряда веществ, в отношении которых возможность определять их в ничтожно малых количествах представляет практический интерес.

3. Описание отдельных реакций *)

Реакция на глицерин. Пробирку с двумя каплями испытуемого раствора наполняют парами брома и, прикрыв вороночкой с запаянным концом, нагревают 10 мин. на водяной бане при 85—90°. Воронку снимают, бром улетучивается; последние следы его удаляют прибавлением кристаллика сульфата натрия. Осторожно, при охлаждении, приливают концентрированную серную кислоту, сначала несколько капель, а затем до объема в 2—3 мл; прибавляют твердую *m*-оксибензойную кислоту, взбалтывают и 10—15 мин. нагревают на водяной бане при температуре 65—70°. В присутствии глицерина постепенно разгорается флуоресценция зеленого цвета. Открываемый минимум — 5γ в 0,05 мл. Реакция основана на образовании флуоресцирующего соединения в результате взаимодействия *m*-оксибензойной кислоты с продуктом окисления глицерина.

Реакция на аллиловый спирт. Описанная реакция обнаружения глицерина применима и к аллиловому спирту, так как первым продуктом окисления является тоже диоксиацетон.

Обнаружение молочной кислоты. Реакция основана на образовании флуоресцирующих соединений при конденсации альдегидов с фенолами. Две капли испытуемого раствора нагревают 2 мин. при 85° с кристалликом *o*-оксидифенила и 1 мл 96%-ной серной кислоты. Присутствие аллилового спирта обнаруживается по появлению флуоресценции синеватого цвета. Предельное разбавление 1:50 000. Изобутиловый альдегид дает флуоресценцию зеленого цвета.

Обнаружение пировиноградной кислоты. К капле испытуемого раствора добавляют порошок магния и затем по стенкам пробирки приливают каплю серной кислоты. Пировиноградная кислота восстанавливается в молочную. По растворении всего магния добавляют кристаллик *o*-оксидифенила и проводят реакцию на молочную кислоту (см. выше). Открываемый минимум 10—3γ.

Обнаружение резорцина. На часовом стекле добавляют к испытуемому веществу немного серной кислоты и ацетоуксусного эфира; присутствие резорцина обнаруживается по яркой флуоресценции фиолетового цвета. Из остальных фенолов только β-нафтол реагирует аналогично, хотя и отличимо от резорцина.

Обнаружение диэтилового эфира фталевой кислоты. Испытуемый раствор выпаривают досуха с небольшим количеством едкого натра, добавляют 5 мл концентрированной серной кислоты и 10 мин. нагревают при 100°; после этого добавляют 25—30 мг резорцина и снова нагревают в течение 5 мин. при 160—170°. При прибавлении 100 мл воды и 50 мл раствора едкого натра разгорается яркая флуоресценция, если в исходном спиртовом растворе содержался диэтиловый эфир фталевой кислоты. Реакция основана на образовании флуоресцеина.

Обнаружение пиридина в денатурированном спирте. При встряхивании испытуемого спирта с солянокислым 2,3-диаминофеназином красно-оранжевый цвет флуоресценции последнего переходит в желто-зеленый, если в спирте содержится пиридин (или хинолин и другие основания).

Реакция основана на выделении оснований из соли.

Обнаружение нитробензола. Испытуемое вещество нагревают с резорцином и серной кислотой до появления фиолетовой окраски; после охлаждения разбавляют водой, нейтрализуют содой и, если надо, фильтруют. Подщелоченный содой раствор флуоресцирует желто-красным светом. Реакция основана на образовании

*) Описания реакций, для которых отсутствуют ссылки на литературу, взяты из книги Гайтингера [91].

резорубина; последний не получается с другими нитросоединениями, однако в присутствии таковых появляется флуоресценция желто-зеленого цвета.

Обнаружение билирубина. Флуоресценция красного цвета, появляющаяся при взаимодействии билирубина с уксуснокислым цинком и йодом, позволяет обнаруживать следы билирубина и его производных.

Пропись реакции: к 5 мл раствора (содержащего 5 мг билирубина в 100 мл спирта и 1 каплю раствора аммиака) прибавляют 5 капель уксуснокислого цинка (1 : 1000) и 1 каплю 1% спиртового раствора йода или раствора брома в хлороформе. Минимальная концентрация — 5 μ /мл.

Обнаружение папаверина. Смесь испытуемого вещества с хлористым цинком и 2—5 каплями бензоилхлорида осторожно нагревают в пробирке на маленьком пламени. В присутствии папаверина наблюдается яркая флуоресценция желто-зеленого цвета. Атропин, скополамин, наркотин и эузаверин в этих условиях не обнаруживают флуоресценции, а криптопин образует соединение, флуоресцирующее синим светом. Открываемый минимум — 20 μ .

Реакция на хинин. К испытуемому раствору прибавляют по каплям бромную воду (насыщенный раствор, разбавленный в 10 раз) до исчезновения флуоресценции голубого цвета; после этого добавляют 25%-ный раствор аммиака до щелочной реакции на лакмус. В присутствии хинина появляется флуоресценция желто-зеленого цвета, еще заметная при концентрации сульфата хинина 0,01 μ /мл.

Гайтингер рекомендует проводить эту реакцию, как капельную, на фильтровальной бумаге и действовать на «пятно» бромом и аммиаком в газообразном состоянии. Эта реакция уточнена Костяковой [92], разработавшей флуоресцентный метод определения хинина в судебно-химической практике; Костякова переводит хинин из исследуемого объекта в водный раствор, подкисленный серной кислотой, и в нем определяет содержание хинина по интенсивности свечения.

Определение концентрации ацетилен в воздухе [93]. Реакция основана на образовании диокси-метил-ксантона из резорцина и ацетилен в присутствии катализатора — окиси ртути.

Через резорциновый реактив медленной струей просасывают отмеренный объем испытуемого газа; после этого вливают раствор в 50%-ную (по объему) серную кислоту из расчета 1 мл реактива на 10 мл кислоты. Полученный сернокислотный раствор нагревают 10 мин. на кипящей водяной бане; для наблюдения флуоресценции его разбавляют десятикратным объемом 2,5%-ного раствора едкого натра, извлекают взбалтыванием с эфиром примеси, флуоресцирующие фиолетовым светом, и наблюдают зеленую флуоресценцию нижнего слоя. При измерении интенсивности свечения спектрофотометром или применении желтого светофильтра, задерживающего синие лучи, извлечение примесей становится излишним.

Пропись приготовления резорцинового реактива: быстро сливают два раствора: 1) 0,5 г резорцина в 10 мл спирта и 2) 0,2 г окиси ртути в 9 мл серной кислоты концентрации: 7 мл воды на 2 мл вдвое разбавленной (по объему) кислоты уд. в. 1,84. Пользуются свежеприготовленным реактивом.

Открываемый минимум — меньше 1 μ .

Групповая реакция на 1—2-дикарбоновые кислоты. При сплавлении с резорцином 1—2-дикарбоновых кислот или их производных получается флуоресценция или его гомологи — соединения, для которых характерна яркая желто-зеленого цвета флуоресценция их щелочных растворов.

Если при сплавлении нагреть смесь выше 130°, то и в отсутствие дикарбоновых кислот появляется флуоресценция зелено-синего цвета. Поэтому Гайтингер рекомендует параллельно проводить слепой опыт.

Дикарбоновые кислоты с гидроксильными группами по соседству с карбоксильными под действием серной кислоты отщепляют СО и конденсируются с резорцином, образуя умбеллиферон и его гомологи, — соединения, флуоресцирующие синим светом.

Групповая реакция на алифатические амины. В отличие от ароматических аминов, алифатические образуют при сплавлении с флуоресцеинхлоридом в присутствии хлористого цинка красители ряда родамина. Цвет флуоресценции продукта сплавления: желтый для первичных аминов и оранжевый для вторичных. Таким образом, эта реакция позволяет не только отличить алифатические амины от ароматических, но и установить их природу: первичные они или вторичные.

По данным Гайтингера, открываемый минимум для диэтиламина и пиперидина равен 4 μ , для других аминов — от 10 до 30 μ .

Аналогично с алифатическими аминами реагируют с флуоресцеинхлоридом амиды и нитрилы кислот. Реакция полезна для обнаружения сахарина в консервах.

Количественный флуоресцентный метод определения пировиноградного альдегида [94]. Метод основан на реакции взаимодействия пировиноградного альдегида с гомотропной кислотой (4,5-диоксиаф-

талин-2,7-дисульфоновая кислота); в концентрированной серной кислоте при этом образуется желтый растворимый продукт конденсации неизвестного состава, обладающий яркой флуоресценцией зеленого цвета, возбуждаемой в сернокислотном растворе светом в интервале длин волн 380—510 мкм.

Пропись реакции: в три колбы емкостью 25 мл каждая со стеклянными пробками наливают по 1 мл анализируемого раствора с содержанием пировиноградного альдегида от 0,5 до 2 мг, стандартного раствора и дистиллированной воды (для слепого опыта), доливают по 1 мл свежеприготовленного 2%-ного раствора гомотроповой кислоты и затем, при охлаждении, по 10 мл охлажденной (льдом) концентрированной серной кислоты (уд. вес 1,84). Температура смеси не должна превышать 25°. Охлаждают колбы ледяной водой, затем нагревают 5 мин. на водяной бане при 50° и быстро охлаждают до комнатной температуры. Добавлением концентрированной серной кислоты доводят объем до 25 мл и измеряют интенсивность флуоресценции полученных растворов.

Стандартные растворы для сравнения готовятся разбавлением исходного раствора, получаемого перегонкой 1 г глицеринового альдегида с 24 мл 1 мол серной кислоты с последующим разбавлением 15 мл полученного дистиллята 100 мл воды; такой исходный раствор содержит 2—5 г/л пировиноградного альдегида; его хранят при 5°; точную его концентрацию определяют осаждением дисемикарбазона.

На результаты определения влияют формальдегид, диацетил, ксилоза, глюкоза и фруктоза.

Определение оксиацетона [95]. Для количественного определения оксиацетона использована яркая синяя флуоресценция 3-гидрокси-хиальдина, образующегося при конденсации оксиацетона с *o*-аминобензальдегидом.

Пропись реакции: в мерную колбу на 25 мл к 1 мл анализируемого раствора с содержанием оксиацетона от 0,30 до 6 мг добавляют 1 мл аминобензальдегидного реактива и затем 5 мл 0,2 н NaOH; колбу погружают в кипящую водяную баню, нагревают 30 мин., быстро охлаждают холодной водой, добавляют 2 мл 0,5 н HCl и 5 мл буферного раствора с pH=6,6; разбавляют водой до метки и измеряют интенсивность свечения. Параллельно проводят слепой опыт.

Для изготовления реактива растворяют 50 мг *o*-аминобензальдегида в 25 мл HCl (уд. вес 1,19), нейтрализуют при охлаждении NaOH до pH=7 и доливают водой до 25 мл.

Такие вещества, как диацетил и фурфурол, значительно снижают интенсивность свечения и тем самым затрудняют использование метода при решении некоторых проблем химии углеводов.

Определение бензила [96]. Метод основан на реакции конденсации diketонов (бензила) с алкилированными аминифенолами (с *m*-диэтиламинофенолом); в результате образуется флуоресцирующее соединение. Для устранения влияния pH среды на измеряемую интенсивность свечения анализируемого спиртового раствора последний нейтрализуют. Зависимость интенсивности флуоресценции от концентрации бензила выражается прямой вплоть до концентрации 0,03 мг/мл.

Определение содержания 2-нитронафталина в 1-нитронафталине [97]. Нитронафталин сульфатируют серной кислотой, восстанавливают (цинковой пылью или иным металлом), разбавляют до нужного объема и обязательно фильтруют, так как даже в растворах, кажущихся прозрачными, взвешенные частицы цинка влияют на интенсивность свечения; pH раствора должен быть 4,6; в качестве буфера применяют уксуснокислый натрий. При возбуждении ближним ультрафиолетовым светом (365 мкм) β -изомер ярко люминесцирует синим светом (~450 мкм), α -изомер — зеленоватым (~510 мкм); при измерении интенсивности флуоресценции β -изомера зеленое свечение α -изомера ослабляют с помощью светофильтра. Кроме того, условия сульфирования подобраны так, что около 95—100% 1-нитронафталина разрушаются, содержание же 2-нитронафталина остается неизменным; этим повышается чувствительность метода.

Пропись реакции сульфирования: к охлажденному раствору 0,1 г образца в 1 мл 100%-ной серной кислоты добавляют 2 мл 60% олеума и прогревают 5 мин. на водяной бане. Полученный раствор обесцвечивают порошком угля; необходимо после отфильтровывания угля тщательно его промыть подкисленной водой (2 мл 95%-ной серной кислоты на 1 л) для извлечения сульфокислоты, которая могла удержаться на угле вместе с примесями. Стандартные растворы готовили из очищенного 2-аминонафталина путем его сульфирования; содержание сульфокислоты в получаемых растворах устанавливалось потенциометрически.

Метод позволяет определять примесь бета-производного в количествах от 0,05% с точностью до 3%. Нафталин и его динитропроизводные, которые обычно тоже содержатся как примесь, не мешают определению. Один анализ может быть выполнен за 1 час.

Флуоресцентная реакция на *o*-оксикарбонильную группировку в ароматических соединениях [98]. Реакция на *o*-оксикарбонил-замещенные ароматические соединения основана на появлении флуоресценции при добавлении борной кислоты к их растворам в концентрированной серной кислоте; она эффективна и в применении к 1-ацил-2-нафтолам; это показано на восьми соединениях, где ацильной группой были пропионил, бутирил, лаурил и т. д.

Микрохимический метод обнаружения 8-оксихинолина и его производных [99]. Следы оксихинолина и его бесцветных производных обнаруживаются по яркой флуоресценции адсорбатов или внутриклеточных соединений, какие они образуют с окисью алюминия, окисью магния и т. д.; цвет флуоресценции—от желтовато-зеленого до голубовато-белого. В водном растворе, в случае оксина, открываемый минимум 0,5 μ .

Определение в виде рибофлавина малых количеств моногидрата аллоксана [100]. Моногидрат аллоксана конденсируют с 1-рибитиламино-2-амино-4,5-диметилбензолом («Р») в присутствии борной кислоты; «Р» применяют в виде раствора его солянокислой соли в ледяной уксусной кислоте.

Градуировочные прямые показывают, что интенсивность флуоресценции конечного раствора пропорциональна содержанию аллоксана в анализируемом растворе. Метод применен для определения степени чистоты препаратов аллоксана.

Определение спиртов с использованием ксантогената калия и применением бумажной хроматографии [101]. В пробирке спирт переводят в ксантогенат калия; на бумажной хроматограмме ксантогенат обнаруживают по его темно-коричневой флуоресценции в ультрафиолетовом свете.

Для девяти различных спиртов приведены значения R_f , найденные при использовании описанного ксантогенатного метода, позволяющего обнаруживать в этиловом спирте примесь, например метанола, в количестве 0,1%.

Идентификация двух- и трехатомных фенолов (пирокатехина, пирогаллола, резорцина, флуорглицина, орсина и гидрохинона) [102]. Идентифицировать эти вещества можно методом бумажной хроматографии. Хроматограмму обрызгивают сахаром (2,0 г) в растворе соляной кислоты (10 мл) и спирта (90 мл), нагревают 40—60 секунд и наблюдают возникающую характерную для различных фенолов окраску и флуоресценцию в ультрафиолетовом свете.

1- и 2-нафтолы. Определение содержания 1- и 2-нафтолов предложено осуществлять по интенсивности их флуоресценции в щелочном растворе [103]. В работе [104] показано их взаимовлияние и целесообразность проводить измерения интенсивности свечения при разных длинах волн (450 и 426 ммк), а также использовать при этом низкие температуры.

Раздельное определение *o*- и *m*-оксибензойных кислот в смесях [105]. При pH=12,0 флуоресцируют оба изомера, при pH=5,5 только ортоизомер. По разности интенсивностей свечения при pH=12 и pH=5,5 находят концентрацию метаизомера.

ЛИТЕРАТУРА к гл. XII

А. Люминесцентный анализ в неорганической химии

Прием I

- 1) А. Н. Зайдель, Я. Ларионов и А. Филиппов, Труды ГОИ, т. XIV, вып. 112—120, 45 (1941); ЖОХ 8, 943 (1938); ЖЭТФ 9, 17 (1939).
- 2) А. Н. Зайдель и Я. Ларионов, Изв. АН СССР, сер. физич., IV, № 1, 25 (1940); ДАН СССР 16, 443 (1937).
- 3) А. Н. Зайдель, Изв. АН СССР, сер. физич., т. IX, 329 (1945).
- 4) С. И. Вавилов и А. Н. Севченко, ДАН СССР 27, 541 (1940).
- 5) H. Gobrecht und Tomaschek, Ann. Physik (5) 29, 324 (1937).
- 2) F. V. Huke, R. H. Heidelberg V. A. Fassel, JOSA 43, 400 (1953).
- 3) V. A. Fassel, R. H. Heidelberg, R. H. Huke, Anal. Chem. 24, № 3, 606 (1952).
- 4) M. Sérigne, C. R. 207, 905 (1938); 209, 210 (1939); Bull. Soc. chim. 7, 121 (1940).
- 5) V. A. Fassel, R. H. Heidelberg, Anal. Chem. 26, № 7, 1134 (1954).
- 6) J. R. Marsh, J. Chem. Soc. November, 577 (1943).
- 7) M. Haitinger, Die Fluoreszenzanalyse in der Mikrochemie, 1937, Wien—Leipzig.
- 8) А. Н. Зайдель, Г. П. Малахова, ДАН СССР 85, № 3, 591 (1952).

9. H. Haberlandt, Mikrochem. ver. Mikrochim. Acta 36—37, 1075 (1951).
10. C. G. Peattie, L. B. Rogers, Anal. Chem. 25, 518, 519 (1953); Spectrochim. Acta 7, 321 (1956); 9, 307 (1957).
11. O. Neunhoeffer, Z. anal. Chem. 132, 91 (1951).
12. С. И. Вавилов и В. Л. Левшин, Zs. f. Physik 48, 397 (1928); В. Л. Левшин, Изв. АН СССР, сер. физич. 2, 185 (1937); А. Н. Севченко, ДАН СССР 42, 349 (1944).
13. В. Л. Левшин и Г. Д. Шереметьев, ЖЭТФ 17, 209 (1947); В. Л. Левшин, Фотолюминесценция жидких и твердых веществ, Гостехиздат, М.—Л., 1951, стр. 202—224; А. Н. Севченко, Б. И. Степанов, ЖЭТФ 21, 212 (1954); А. Н. Севченко, Д. С. Умренко, Ученые записки Белорусского государств. ун-та, сер. физич., вып. 41, Минск (1958), стр. 27.
14. I. Parish and L. E. Hoag, Proc. Nation. Acad. Science 13, 726 (1927).
15. Отчет о дискуссии по люминесцентному анализу, Anal. Chem. 24, № 12, 1965 (1952).
16. F. Hernegger, B. Karlik, Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien, Abt. IIa 144, 217 (1935).
Сплавление с фторидом натрия; открываемый минимум под люминесцентным микроскопом 0,001 γ U.
17. Т. С. Добролюбская, Ж. аналит. химии 11, вып. 1, 3 (1956); Труды Комиссии по аналит. химии, т. XIII (XI), стр. 178 (1958); А. Ф. Филоцова, Ж. аналит. химии, XII, № 6, 718 (1957); G. R. Price, R. J. Ferritti and S. Schwartz, Anal. Chem. 25, 322 (1953).
18. F. A. Centarpi, A. M. Ross, M. A. Sesa, Anal. Chem. 28, 1651 (1956).
19. L. L. Thatcher, F. V. Barker, Anal. Chem. 29, 1575 (1957).
20. М. Капник, Успехи физических наук 52, вып. 4, 656 (1954); из текущей литературы. J. T. Burnl, Anal. Chem. 29, 1408 (1957).
21. Nakanishi, Bull. Chem. Soc. J. 24, № 4, 33; № 5, 36 (1952); Chem. Abstr. 46, 11030 (1952).
22. Ch. E. White, Anal. Chem. 26, 129 (1954) (обзор).
23. Ch. E. White, Anal. Chem. 24, 87 (1952); 30, 729 (1958) (обзоры).
24. M. A. Northup, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 17, 664 (1945); Chem. Abstr. 40, 30 (1946). (Свечения Nb и Ce в перлах, содержащих уранил.)
25. J. T. Randall, Trans. Faraday Soc. XXXV, № 1, 1 (1939).
26. В. А. Архангельская, П. П. Феофилов, Оптика и спектроскопия 2, вып. 1, 107 (1957).
27. Э. Я. Арапова, Е. Г. Баранова, В. Л. Левшин, Т. В. Тимофеева, А. К. Трофимов, П. П. Феофилов, Труды Комиссии по аналитической химии АН СССР, XII, 344 (1960). Определение гадолиния в металлургическом бериллии. В. Л. Левшин, Э. Я. Арапова, Е. Г. Баранова, Труды Комиссии по аналитической химии АН СССР, XII, 393 (1960). Определение самария и европия в металлургическом тории.
28. К. П. Столяров, Н. Н. Григорьев, Ж. анал. хим. 14, вып. 1, 71 (1959); Зав. лабор., № 9, 1030 (1956).

Приемы II, III и табличные данные

1. Ch. E. White, Anal. Chem. 24, 87 (1952).
2. Ch. E. White, M. H. Fletcher, I. Parks, Anal. Chem. 23, 3, 464 (1951).
3. H. Goto, Sci. Rep. Tôhoku Imp. Univ., Ser. I 29, 287 (1940); Chem. Zb. 1, 1069 (1941).
4. J. Michal, Chem. Listy 50, 77 (1956); Kollekt. czechoslov. chem. commun. 21, 576 (Juni 1956), Praha.
5. Ch. E. White, C. S. Lowe, Ind. Eng. Chem. Analyt. Ed. 13, 11, 809 (1941).
6. Ф. Фейгль, Капельный анализ, 1957.
7. M. Kolthof, Zs. Analyt. Chem. 70, 398 (1927).
8. M. Haitinger, Die Fluoreszenzanalyse in der Mikrochemie, Wien—Leipzig, 1937.
9. Блок, Бумажная хроматография, ИЛ, 1955.
10. Ch. C. Miller, R. J. Magee, J. Chem. Soc., 3183 (1951).
11. F. H. Pollard, J. F. W. McOmie, J. J. M. Elbeih, J. Chem. Soc. 466 (1951); 470 (1951).
12. Е. А. Божевольнов, А. М. Лукия, Совм. авт. свидетельство № 111859 от 1 июля 1957 г.

13. Е. А. Божевольнов, Труды ВНИИ хим. реактивов, вып. 24, Госхимиздат, 1960.
14. А. А. Пономаренко, Н. А. Маркарьян, А. И. Комлев, ДАН СССР 86, 115 (1952); А. Ф. Самсоиук, А. А. Пономаренко, Р. Е. Шидель, Львовский торгово-экономический институт. Записки научного студенческого общества, вып. 1, Львов, 1957.
15. P. W. Dankwort und J. Eisenbrand, Lumineszenzanalyse in filtrierten ultravioletten Licht, Leipzig, 1956.
16. H. Goto, Sci. Rep. Tôhoku. Imp. Univ., Ser. 1, 29, 204, 287 (1940); Chem. Zb. 1, 1068 (1941).
17. H. Eichler, Zs. analyt. Chem. 96, 22 (1934).
18. Tableaux des reaktifs pour l'analyse minerale 3 rapport de la «Comission International des reaktions et reaktifs analytiques nouveaux», Paris, 1948.
19. H. Goto, Sci. Rep. Tôhoku. Imp. Univ., Ser. 1, 28, 513 (1940); Chem. Zb. 2, 2926 (1940).
20. E. A. Koksiss, Cy. Zádor, J. F. Kallos, Zs. analyt. Chem. 126, 4, 138 (1943).
21. Ch. E. White, J. Chem. Ed. 28, 369 (1951).
22. E. D. Palmes, W. C. Alford, U. S. Public Health Service 181, 10 (1945); Реферат в Zs. anal. Chem. 128, 329 (1948).
23. H. Haberlandt, Mikrochem. ver. Mikrochim. Acta 36—37, 1075 (1951).
24. Ch. E. White, Anal. Chem. 26, 129 (1954).
25. M. Kenji, Bull. Chem. Soc. Japan 29, 1, 75 (1956).
26. E. B. Sandell, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 12, 674, 762 (1940); Chem. Zb. 2, 322 (1942).
27. G. Venturello, Ric. sci. Progr. Techn. 13, 726 (1943); Chem. Zb. 1, 2519 (1943).
28. M. H. Fletcher, Ch. E. White, H. S. Sheftel, Ind. Eng. Chem. Analyt. Ed. 18, 179 (1946).
29. V. Patrovsky, Chem. Listy 47, 5, 676 (1953).
30. Zermatten, Proc. Akad. Sci. Amsterdam 36, 899 (1953).
31. F. W. Klemperer, A. P. Martin, Anal. Chem. 22, 6, 828 (1950).
32. H. A. Lantinen, P. Kiwalo, Anal. Chem. 24, 9, 1467 (1952).
33. G. Welford, J. Harley, J. Am. Ind. Hyg. Assac. Quart 13, 332 (1952).
34. Z. Holzbecher, Chem. Listy 48, 8, 1156 (1954); Collect. Czechoslov. Chem. Commun. 20, 193 (1955), Praha.
35. Ch. E. White, M. H. Neustadt, Ing. Eng. Chem. An. Ed. 15, 599 (1943).
36. C. Oster, Comptes Rendus Hebdomadaire de l'Acad. des sciences de Paris 232, 18, 1708 (1951).
37. Е. А. Божевольнов, Труды ВНИИ хим. реактивов, вып. 22, 60, Госхимиздат, 1958.
38. L. L. Merrit, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 16, 758 (1944).
39. J. Eisenbrand, Pharmaz. Ztg. 75, 1033 (1930).
40. R. E. Lutz, J. of ind Hygiene 7, 273, 1545 (1925).
41. G. Deniges, Bull. trav. Soc. pharm. Bordeaux 88, 9 (1950); Compt. Rend. 229, 734 (1949).
42. N. E. Louis, A. Reber, Analyt. Chem. 26, 5, 936 (1954).
43. E. A. Koksiss, J. F. Kallos, Cy. Zádor, L. Molnar, Ztschr. anal. Chem. 126, 10, 452 (1944).
44. L. Szebelledy, St. Tanaу, Zs. analyt. Chem. 107, 26 (1936).
45. И. М. Коренман, Ж. анал. хим. 2, 3, 158 (1947).
46. J. A. Radley, Analyst 69, 47 (1944).
47. K. Neelakantam, L. R. Row, Proc. Indian Acad. Sci. 16a, 349 (1942).
48. Ch. E. White, A. Weissler, D. Busker, Analyt. Chem. 19, 10, 802 (1947).
49. J. A. Radley, Analyst 63, 266 (1938).
50. W. I. Barnes, Analyst 82, 4, 978, 606 (1957).
51. Ch. E. White, D. E. Hoffman, Analyt. Chem. 29, 7, 1105 (1957).
52. L. Sommer, Chem. Listy 51, 81, 11, 2032 (1957).
53. K. Tanbock, Naturwiss. 30, 439 (1942).
54. L. Szebelledy, F. J. Gaal, Zs. analyt. Chem. 98, 255 (1934).
55. L. Comenda, Chem. Listy 47, 4, 531 (1953).
56. N. A. Raju, G. G. Rao, Nature 174, 400 (1954).
57. Д. П. Щербов, Р. Н. Коржева, Тезисы докладов 6-го совещания по люминесценции, январь 1958 г., Изд. АН СССР, 1958, стр. 65.

58. Д. П. Щербов, Тезисы докладов юбилейной сессии, посвященной 40-летию Великой Октябрьской социалистической революции, АН Каз. ССР, Алма-Ата 1957.
59. A. R. Eberle, G. I. Petretic, Nuclear Sci. Abstr. 5, 2412 (1951).
60. P. H. Monaghan, M. S. Taggart, Anal. Chem. 25, 989 (1953).
61. J. Kinnunen, Merikanto, Anal. Chem. 23, 1690 (1951).
62. E. Goon, J. E. Petley, W. H. Mc. Mullen, S. S. Wiberley, Analyt. Chem. 25, 608 (1953).
63. A. Weisler, Ch. E. White, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 18, 530 (1946).
64. J. W. Tillo, W. J. Stringer, G. A. F. Harrison, Analyst 74, 296 (1949).
65. Fr. Goppelsroeder, Zs. analyt. Chem. 7, 195 (1868).
66. M. Tschwet, Zs. analyt. Chem. 36, 450 (1901).
67. Ch. E. White, C. S. Lowe, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 12, 229 (1940).
68. А. Л. Давыдов, А. С. Девекки, Зав. лабор. 10, 134 (1941).
69. Е. А. Божевольнов, А. А. Прянишников, Б. С. Пальчиц, Совм. авт. свидетельство 114463 с приоритетом от 24 апреля 1958 г.
70. C. H. R. Gentry, L. G. Scherrington, Analyst 71, 432 (1946).
71. L. G. Basset, J. H. Harley, S. E. Wiberley, J. Chem. Ed. 28, 466 (1951).
72. F. S. Grimaldi, G. Lewine, U. S. Geological Survey Trace Elements Investigation Rept., 60, 1950.
73. I. B. Zumerman, Can. Dept. Mines. a. Techn. Survey Radioactivity Div. Top. Rept. 104 (1952); Tec. Paper 4 (1952).
74. E. B. Sandell, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 13, 844 (1941); Anal. Chem. 19, 63 (1947).
75. С. Д. Гурьев, Л. Б. Гинзбург и А. П. Шибаренкова, Сб. трудов Гинцветмета 10, 387, Металлургиздат, 1955.
76. Е. В. Сендел, Колориметрическое определение следов металлов, Госхимиздат, 1949.
77. В. Ф. Гиллебранд, Г. Э. Лендель, Г. А. Брайт, Д. Гофман, Практическое руководство по неорганическому анализу, Госхимиздат, 1949.
78. G. Charlot, R. Sauguin, Dosages colorimetriques, p. 164, Masson 1, Paris, 1952.
79. J. W. Collat, L. B. Rogers, Analyt. Chem. 27, № 6, 961 (1955).
80. Ch. E. White, C. S. Lowe, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 9, 430 (1937).
81. B. Donald, C. Freeman, Ch. E. White, J. Am. Chem. Soc. 78, 12, 2678 (1956).
82. I. A. Radley, Analyst 68, 369 (1943).
83. I. M. Ladenbauer, J. Korkis, F. Necht, Mikrochim. Acta 5—6, 1076 (1955).
84. В. А. Назаренко, С. Я. Винковицкая, Материалы первого совещания работников лабораторий Мин-ва цветн. металлов СССР. Информация 194 МЦМ, Москва, 1956, стр. 147.
85. Z. Holzbecher, Chem. Listy 47, 5, 680 (1953).
86. V. Patrovsky, Chem. Listy 48, 4, 537 (1954).
87. Е. А. Божевольнов, Труды ВНИИ химреактивов, вып. 22, стр. 70, Госхимиздат, 1958.
88. Е. А. Божевольнов, В. М. Янишевская, Методы люминесцентного анализа. Материалы 8-го совещания по люминесценции, Изд. АН БССР, Минск, 1960, стр. 59; Ж. Всесоюзного химического общества им. Д. И. Менделеева 5, 356 (1960).
89. Е. А. Божевольнов, А. М. Лукин, М. Н. Градинарская, Совм. авт. свидетельство 116838 с приоритетом 13 мая 1958.
90. А. М. Лукин и Е. А. Божевольнов, Ж. анал. хим. № 1 (1960).
91. Е. А. Божевольнов, А. М. Лукин, В. М. Янишевская, Е. В. Холод, Совм. авт. свидетельство 119287, 1958 г.
92. А. И. Черкесов, ДАН СССР 118, 2, 309 (1958).
93. G. Vesck, Mikrochim. Acta 27, 47 (1939).
94. I. M. Ladenbauer, Mikrochim. Acta 7/8, 1219 (1956).
95. T. Moeller, A. Coen, Analyt. Chim. Acta 4, 3, 316 (1950).
96. H. Onishi, Analyt. Chem. 27, 5, 832 (1955).
97. H. Onishi, E. B. Sandell, Anal. Chim. Acta 13, № 2, 159 (1955).
98. В. С. Салтыкова, Е. А. Фабрикова, Ж. анал. хим. 13, № 1, 63 (1958).
99. Д. П. Щербов, И. Т. Соловьян, А. В. Дробаченко, Тезисы докладов 6-го совещания по люминесценции, январь 1958 г., Ленинград.

100. L. K. Bradaks, F. Feigl, F. Hecht, *Mikrochim. Acta* 2, 269 (1951).
101. G. Beck, *Mikrochemie* 20 (N. F. 14), 194 (1936).
102. P. Wenger, R. Duckert, *Helv. Chim. Acta* 25, 699 (1942).
103. E. Herzfeld, *Zs. analyt. Chem.* 115, 131 (1938).
104. R. Bock, K. G. Hackstein, *Zs. anal. Chem.* 138, 337 (1953).
105. V. Patrovsky, *Chem. Listy* 47, 1338 (1953).
106. G. Beck, *Mikrochim. Acta* 2, 287 (1937).
107. F. Feigl, V. Gentil, D. Goldstein, *Analyt. Chim. Acta* 9, № 5, 393 (1953).
108. Е. А. Божевольнов, В. М. Янишевская, *Сцинтилляторы и сцинтилляционные материалы. Материалы II координационного совещания по сцинтилляторам 1957 года. М., 1960, стр. 252.*
109. H. Goto, *J. Chem. Soc. Japan* 60, 937 (1939).
110. C. W. Sill, H. E. Peterson, *Anal. Chem.* 21, 1266 (1949).
111. К. П. Столяров и Н. Н. Григорьев, *Зав. лабор., № 9, 1030 (1956).*
112. J. Comenda, *Chem. Listy* 47, 5, 743 (1953).
113. G. N. A. Raju, G. G. Rao, *Nature* 175, 167 (1955).
114. А. Ф. Фиолетова, *Ж. анал. хим.* 14, 739 (1959).
115. W. S. Alford, L. Shapiro, Ch. E. White, *Anal. Chem.* 23, 8, 1149 (1951).
116. F. S. Grimaldi, Ch. E. White, *Analyt. Chem.* 25, 12, 1886 (1953).
117. R. A. Geiger, E. B. Sandell, *Anal. Chim. Acta* 16, 346 (1957).
118. F. Feigl, V. Gentil, D. Goldstein, *Mikrochim. Acta* 1, 93 (1954).
119. F. Feigl, V. Gentil, *Mikrochim. Acta* 1, 90 (1954).
120. Л. Б. Гинзбург, Э. П. Шкробот, *Зав. лабор.* 23, 5, 527 (1957).
121. I. R. A. Anderson, L. S. Lenzer, *Analyt. Chim. Acta* 15, 3, 246 (1956).
122. Ch. Coyle, Ch. E. White, *Analyt. Chem.* 29, 10, 1486 (1957).
123. M. H. Fletcher, R. G. Milkey, *Anal. Chem.* 28, 9, 1402 (1956).
124. H. Eichler, *Zs. anal. Chem.* 96, 17 (1934); ссылка [8].
125. E. Schantl, *Mikrochemie* 2, 174 (1925).
126. Y. J. Korb, F. Vydra, *Chem. Listy* 51, 1457 (1957); Y. D. Wilkins, *Talanta* 4, 80 (1960).
127. J. Grant, I. H. W. Boot, *Analyst* 57, 514 (1932).
128. J. Grant, H. Proktor-Smith, *Analyst* 59, 749 (1934).
129. H. Eichler, *Zs. anal. Chem.* 96, 98 (1934).
130. C. Almassy, M. Vigvári, *Magyar kem. folyóirat* 62, 10, 332 (1956).
131. A. Murata, Yamauchi, *Pepts. Fac. Engng. Shizuoka Univ.* 7, 70 (1956); РЖХ, 28442 (1958).
132. Чэнь Го-чжен, Чжен Чжу-цзы, *Acta scient. natur. Univ. amoensis* 1, 121 (1957).
133. М. Константинова-Шлезингер, *Ж. физ. химии* 9, 6 (1938).
134. H. Kautsky and A. Hirsch, *Z. anorg. Chem.* 222, 126 (1935).
135. M. Pollack, P. Pringsheim and D. Terwood, *J. Phys. Chem.* 12, 295 (1944).
136. М. Константинова-Шлезингер и В. С. Краснова, *Зав. лабор.* № 6, 567 (1945).
137. М. Константинова-Шлезингер, *Acta Physico-Chem.* 3, 435 (1935); *Труды Физич. ин-та АН I, 119 (1936); Труды Эльбрусской экспед. 1934—1935 гг., 49 (1936); Изв. АН СССР XIV, № 4, 187 (1937).*
138. J. Grant, *Analyst* 61, 400 (1936); W. M. Scaber, *Analyst* 61, 14 (1936); сноска [8].
139. А. К. Бабко, П. В. Ходулина, *Украинский химич. журнал* 17, 2, 191 (1951).
140. H. H. Williar, C. A. Horton, *Anal. Chem.* 24, 862 (1952).
141. W. A. Powell, J. H. Saylor, *Anal. Chem.* 25, 960 (1953).
142. S. W. Chaikin, T. D. Glassbrook, *Division of analytical chem. symposium on Air Pollution 124-th Meeting, Am. Chem. Soc., Los Angeles Calif., 1953.*
143. S. W. Chaikin, T. D. Glassbrook, *Research for Industry* 5, 2 (1953).
144. V. Volmar, *Bull. Soc. Chim.* 53, 385 (1933); сноска [8].
145. E. A. Coksis, Cy. Zador, J. F. Kallios, *Zs. anal. Chem.* 126 5, 177 (1943).
146. K. Brandt, H. Dahlenberg, *Acta Chim. Scand.* 4, 582 (1950).
147. F. H. Pollard, J. F. W. McOmie, J. J. M. Elbein, *J. Chem. Soc.* 466 (1951).
148. F. H. Pollard, J. F. M. McOmie, H. M. Stevens, *J. Chem. Soc.*, 4734 (1952); 3435 (1954).
149. Ch. C. Miller, R. I. Magee, *J. Chem. Soc.*, 3183 (1951).

150. W. A. Reeves, Th. B. Crumpler, *Anal. Chem.* **23**, 1576 (1951).
151. D. E. Laskowski, W. C. McCrone, *Anal. Chem.* **23**, 1579 (1951).
152. F. H. Pollard, J. F. W. McOmie, J. J. Elbein, *J. Chem. Soc.*, 470 (1951).
153. М. С. Иванова, Труды Комиссии по аналит. химии, т. VII (X), 77 (1956).

Б. Люминесцентный анализ в биологии, биохимии и органической химии

1. Fieser and Newman, *J. Amer. Chem. Soc.* **58**, 2376 (1936); J. W. Cook, A. M. Robinson and Goulden, *J. Chem. Soc.*, 393 (1937); W. E. Bachmann, J. W. Cook, A. Dansi, C. G. M. de Worms, G. A. D. Haslewood, C. L. Hewett and M. M. Robinson, *Proc. Roy. Soc. Ser. B* **123**, 343—368 (1937); J. A. Miller and C. A. Baumann, *J. Amer. Chem. Soc.* **65**, 1540 (1943). Влияние кислорода на флуоресценцию некоторых углеводов. H. Weil-Malherbe, *Cancer Research* **4**, 102 (1944); *Chem. Abstr.* **38**, 5573 (1944). Рекомендуется проводить количественные определения в атмосфере азота, так как в числе других факторов на интенсивность флуоресценции канцерогенных углеводов влияет и кислород.
2. W. F. Bruce, *J. Am. Chem. Soc.* **63**, 304 (1941).
3. Э. В. Шпольский, УФН, т. LXVIII, вып. 1, 59 (1959).
4. А. А. Ильина, *Ж. анал. хим.* **5**, вып. 2, 90 (1950); *Изв. АН СССР, сер. физич.* **15**, № 6, 771 (1951).
5. П. П. Дикун, Доклад на VI совещании по люминесценции, Ленинград, февраль 1958; П. П. Дикун, *Вопросы онкологии*, № 8 и № 9 (1959); №№ 3, 4 (1958); *Гигиена и санитария*, №№ 4 и 8 (1958).
6. С. Г. Богомолов, Доклад на VI совещании по люминесценции, Ленинград, февраль 1958.
7. Н. М. Томсон, *Изв. АН Эст. ССР*, № 3, 31 (1952).
8. H. Lettё und Al. Jahn, *Naturwiss.* **42**, 210 (1955).
9. M. B. Shimkin, B. K. Kol, Z. Zechmeister, *Science* **113**, № 2945, 650 (1951).
10. V. von Brand, *Naturwiss.* **42**, 300 (1955).
11. В. М. Бергольц, А. А. Ильина, В. В. Базилевич, *Биохимия* **14**, вып. 1, 20 (1949); В. М. Бергольц, А. А. Ильина, *Биохимия* **16**, № 3, 262 (1951).
12. H. Druckrey, D. Schmahl, *Naturwiss.* **42**, № 6, 159 (1955).
13. М. Константинова-Шлезингер, Труды Физич. ин-та АН СССР II, вып. 2—3, 82 (1942).
14. G. A. Groves, M. J. Huston, *J. Am. Pharm. Ass.* XXXIX, № 5, 280 (1950).
15. H. S. Strickler, R. C. Grauer, M. R. Caughey, *Anal. Chem.* **28**, 1240 (1956).
16. W. R. Slaunwhite, L. L. Engel, P. C. Olmsted, P. Garter, *J. Biol. Chem.* **191**, 627 (1951).
17. J. B. Garst, J. F. Nye, D. M. Maron, H. B. Friedgood, *J. Biol. Chem.* **186**, № 1, 119 (1950).
18. M. Finkelstein, *Nature* **168**, № 4280, 830 (1951).
19. B. Zondek, M. Finkelstein, *Nature* **168**, № 4280, 831 (1951).
20. M. Finkelstein, *Proc. Soc. Exp. Biol. a. Med.* **69**, 181 (1948).
21. M. Finkelstein, *Nature* **169**, № 4309, 929 (1952).
22. E. Epstein, W. O. Maddock, A. J. Boyle, *Anal. Chem.* **29**, 1548 (1957).
23. H. Bierry, B. Gouzon, *C. R.* **202**, 686 (1936).
24. M. Serembe, *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* **27**, № 7—8, 1330 (1951).
25. M. Serembe, *Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.* **27**, № 7—8, 1331 (1951).
26. D. H. Feldman, H. S. Kelsey, J. C. Cavaignol, *Anal. Chem.* **29**, 1697 (1957).
27. A. Saltzman, *J. Lab. Clin. Med.* **35**, № 1, 123 (1950).
28. G. Oster, *C. R.* **232**, № 18, 1708 (1951).
29. O. Warburg und W. Christian, *Bioch. Z.* **254**, 43 (1932); **266**, 377 (1933); W. Koschaga, *Z. physiol. Ch.* **229**, 103 (1934). Действие света на лиохром — описание превращения витамина В²; *Ibid.* **232**, 101—110. Определение лиохромов методом хроматографической адсорбции. F. Vivanco, *Naturwiss.* **23**, 306 (1935). К балансу флавинов в животном организме. Флавины определялись по интенсивности флуоресценции. H. Euleg und E. Adler, *Z. physiol. Ch.* **223**, 105 (1934). Определение витаминов по флуоресценции. A. Emmerie and M. Eskeler, *Nature* **138**, 164 (1936). Витамин адсорбируется на сернистом свинце в присутствии ледяной уксусной кислоты, элюируется пиридином, флуоресценция примесей устраняется их окислением. К. Л. Поголоцкая, *Биохимия*

- 4, вып. 3, 327 (1939); P. Ellinger and M. Holden, *Bioch. J.* 38, 147 (1944); *Chem. Abstr.* 39, 239 (1945). Тушащее действие электролитов на флуоресценцию рибофлавина и тioxрома — поглощение возбуждающего ультрафиолетового света.
30. A. Hoffer, A. W. Alcock and W. F. Geddes, *Cereal Chem.* 21, 524 (1944); *Chem. Abstr.* 39, 1475 (1945).
31. A. Hoffer, A. W. Alcock and W. F. Geddes, *Cereal Chem.* 21, 515 (1944); *Chem. Abstr.* 39, 1475 (1945).
32. C. H. Whitnah, B. L. Kunerth and M. M. Kramer, *J. Amer. Chem. Soc.* 59, 1153 (1937).
33. S. W. F. Hanson, A. F. Weiss, *Analyst* 70, 48 (1945); *Chem. Abstr.* 39, 2084 (1945).
34. D. V. Hand, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* 11, 306 (1939).
35. Г. Д. Елисеева, *Укр. біохім. журн.* 22, № 2, 154 (1950).
36. H. Roth, *Biochem. Zs.* 320, H. 4, 355 (1950).
37. W. Karger, *Helv. Chim. Acta* 20, 1147 (1937). Определение витамина В₁ в человеческой моче. В₁ удается обнаружить при содержании 3—5γ в 100 мл. М. Jowett, *Chem. Industry* 58, 556—557 (1939). Модификация тioxромного метода для определения витамина В₁ в моче. H. G. K. Westerbriink and J. Goudsmit, *Nederl. Tydsch. genesekunde* 81, 2632; *Chem. Zbl.* II, № 17 (1937). Окисление красной кровяной солью — определение в моче.
38. E. Loewenstein, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.* 15, 658 (1943); *Chem. Abstr.* 38, 1 (1944). Стекланные стандарты для флуометрических определителей.
39. F. G. Stock, *Analyst* 75, № 894, 499 (1950).
40. E. R. Dawson и др., *Analyst* 76, 127 (1951).
41. A. E. Teeri, *J. Biol. Chem.* 196, 547 (1952); *Chem. Abstr.* 46, 11304 (1952).
42. Г. Д. Елисеева, *Укр. біохім. журн.* 23, № 2, 229 (1951).
43. Ю. М. Островский, *Лабор. дело* 2, 9 (1956).
44. Д. С. Запрудская, *Биохимия* 16, № 3, 280 (1951).
45. A. v. Muralt, *Arch. Ges. Physiol. (Pflugers)* 247, 1 (1943); *Chem. Abstr.* 38, 2053 (1944).
46. W. E. Ohnesorge, L. B. Rogers, *Anal. Chem.* 28, 1017 (1956).
47. V. A. Najjar and V. White, *Science* 99, 284 (1944); *Chem. Abstr.* 38, 3008 (1944) (приведен список работ: 11 названий).
48. P. Ellinger and R. A. Coulson, *Nature* 152, 383 (1943); P. Ellinger, *Nature* 155, 319 (1945); Y. Raoul, *Bull. soc. Chim. biol.* 25, 266, 271, 279 (1943); *Chem. Abstr.* 38, 3696 (1944); J. W. Huff and W. A. Perlenzweig, *Science* 100, 28 (1944); J. W. Luff, W. A. Perlenzweig, *J. Biol. Chem.* 167, 157 (1947).
49. K. J. Carpenter, E. Kodicek, *Biochem. J.* 46, 421 (1950); *Chem. Abstr.* 44, 10029 (1950).
50. Г. А. Черкес, *Биохимия* 17, № 6, 706 (1952).
51. Обнаружение витамина А по его флуоресценции в срезах печени и других животных органов: H. Porrer, *Arch. Path.* 31, 766 (1941); H. Porrer and R. Greenberg, *Ibid.* 32, 11 (1941); *Am. J. Physiol.* 134, 114 (1941); B. W. Volk and H. Porrer, *Arch. Path.* 38, 90 (1944); 71 (1944); *Chem. Abstr.* 39, 957 (1945). Обнаружение миграции витамина А в организме. H. N. Brocklesby and N. I. Rogers, *Chem. Abstr.* 35, 2674 (1941); 36, 2372 (1942). Определение концентрации витамина А по тушению его флуоресценции. E. M. Hume, *Nature* 467 (1937).
52. H. Sobotka, S. Kann and E. Loewenstein, *J. Am. Chem. Soc.* 65, 1959 (1943); *Chem. Abstr.* 38, 406 (1944); H. Sobotka, S. Kann, W. Wintertnitz and E. Brand, *J. Amer. Chem. Soc.* 66, 1162 (1944); *Chem. Abstr.* 38, 4516 (1944); H. M. Kascsher and J. G. Buxter, *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, August 1945 no Newsletter, сентябрь 1945. Метод Sobotka требует улучшения: результаты количественных определений этим методом получаются неверные.
53. О. А. Петровская, *Проблемы физиологической оптики* 10, 128 (1952).
54. Н. А. Андреева, В. Н. Букин, *ДАН СССР* 64, № 1, 95 (1949).
55. M. Kofler, *Helv. chim. Acta* 25, 1469 (1942); 26, 2114 (1943) (указано по книге Danckwortt und Eisenbrand, *Lumineszenzanalyse im filtrierten ultravioletten Licht*).
56. A. Fujita, K. Matsuura, *Vitaminology* I, 267 (1955).
57. J. A. Mead, J. N. Smith, R. T. Williams, *Biochem. J.* 61, 569 (1955); D. Robinson, *Biochem. J.* 63, 39 (1956).
58. O. H. Lowry, N. R. Roberts, J. I. Kappahn, *J. Biol. Chem.* 224, 1047 (1957); N. O. Kaplan, S. P. Colowick, C. C. Barnes, *J. Biol. Chem.* 191, 461 (1951).

59. М. Л. Петрунькин, А. М. Петрунькина, Практическая биохимия, Медгиз, Л., 1951, стр. 315, 326—330, 336, 344.
60. См. литературные ссылки ко второму приложению (стр. 367). A. Sterk und H. Molvig, Zs. phys. Chem. (A), 175, 38 (1935); 176, 209 (1936); Ch. Dhéré, C. R. 202, 442 (1936). Спектры флуоресценции в ближней инфракрасной области. H. Fischer und H. Orth, Die Chemie des Pyrrrols, Bd. II, 1 Hälfte, Leipzig, 1937; J. Engar, An. Assoc. Argentina 30, 217 (1942); Chem. Abstr. 39, 293 (1945). Свечение тушится хлорным железом (1%), тушащее действие парализуется прибавлением $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$.
61. H. Fink und K. Weber, Naturwiss. 18, 16 (1930). Флуоресценция порфиринов и концентрация Н-донов. H. Fink, Ber. dt. Chem. Ges. 70, 1477 (1937). Выделение порфиринов и их идентификация по кривым рН—интенсивность флуоресценции. A. Thiel, Biochem. Zs. 298, 436 (1938). Метод определения порфиринов в моче, удобный в клинических условиях.
62. S. Schwatz, V. E. Haukinson and C. J. Watson, Science 103, № 2672, 338 (1946). Предлагаемый метод позволяет довольствоваться минимальным количеством порфиринов, в каких они содержатся в биологических средах; два изомера копропорфирина различают по скорости исчезновения флуоресценции, обусловливаемой коагуляцией в ацетоновом растворе. L. W. McErgloу, K. Salomon, F. H. J. Figgен and G. R. Cowdl, Science 94, 469 (1941); Chem. Abstr. 36, 1367 (1942). По флуоресценции установлено, что патологические отложения у авитоминозных (недостаток никотиновой кислоты) крыс содержат порфирины. S. a. T. Gillman and S. Brenner, Nature 156, 689 (1945). Флуоресценция порфиринов в печени больных пеллагрой.
63. M. Blumer, Anal. Chem. 28, 1640 (1956). N. N. Dunning, J. K. Carlton, Anal. Chem. 28, 1362 (1956).
64. V. Holček, Chem. Listy 51, 315 (1957); M. O'LCrowe, A. Walker, JOS. 47, 1044 (1957).
65. М. Константинова-Шлезингер и В. С. Краснова, Доложено на конференции Московского фармацевтического института, 1940.
66. С. Р. Френкель, Укр. биохим. журн. 23, № 3, 348 (1951).
67. С. К. Розенталь, Изв. АН СССР, сер. физич. 15, № 6, 793 (1951).
68. С. К. Розенталь, Природа, № 2, 67 (1951) (приведена литература).
69. В. Горкин, Сб. работ студ. научн о-ва Харьковский. мед. ин-та, № 8, 49 (1949); P. Fischer, Z. M. Vasc, Exp. Med. Surg., VIII, № 2—4, 104 (1950); J. D. Bu'Lock, J. Harley-Mason, J. Chem. Soc., 712 (1951); P. Marquardt, E. Carl, Naturwiss. 39, № 9, 210 (1952).
70. A. Lund, Acta pharmacol. Toxicol. 6, 137 (1950); S. Poston, Analyt. Chem. 30, 1363 (1958); U. S. Euler, J. Floding, Acta Physiol. Scand. 33, Suppl. 118, 45 (1955); Scand. J. Clin. Lab. Invest. 8, 288 (1956); G. P. Burn, E. O. Field, Nature 178, 542 (1956). H. Weil-Malherbe, A. D. Bone, Biochem. J. 67, 65 (1957); W. A. Hunziger, G. Ritzel, H. Staub, Helv. Chem. Acta. 39, 2096 (1956); J. A. Richardson, A. K. Richardson, O. J. Brodie, J. Lab. Clin. Med. 47, 832 (1956).
71. J. H. Heller, R. B. Setlow, E. Mylon, Am. J. Physiol. 161, № 2, 268 (1950); J. H. Heller, R. B. Setlow, E. Mylon, Science 112, № 2899, 88 (1950).
72. A. Drilhon, R. G. Busnel, C. R. 232, № 2, 182 (1951).
73. A. Drilhon, R. G. Busnel, C. Vago, C. R. 232, № 4, 360 (1951); A. Drilhon, C. R. 232, № 20, 1876 (1951).
74. H. Kraut, L. Wildemann, Biochem. Zs. 321, № 5, 368 (1951).
75. M. Mason, C. P. Berg, J. Biol. Chem. 188, 783 (1951).
76. M. Weatherall, A. Comfort, Nature 69, № 4301, 587 (1952).
77. P. Moller, Acta Chem. Scand. 5, 1418 (1951).
78. L. Nanniga, B. Bink, Nature 168, № 4270, 389 (1951).
79. D. Kritchevsky, M. R. Kirk, J. Am. Chem. Soc. 74, № 18, 4713 (1952).
80. M. Shea, Nature 165, № 4201, 729 (1950).
81. E. Kodicek, K. K. Reddy, Nature 168, № 4272, 475 (1951).
82. O. Snellman, B. Gelotte, Nature 168, № 4272, 461 (1951).
83. J. Porath, P. Flodin, Nature 168, № 4266, 202 (1951); T. Wieland, L. Bauer, Angew. Chem. 63, № 21, 511 (1951).
84. Ch. E. White, Anal. Chem. 30, 729 (1958).
85. Ch. Dhéré, La Fluorescence en biochimie, 1937. Coll. problèmes biologiques. Les Presses Universitaires, Paris, 1937; Ch. Dhéré, Nachweiss der biologischen wichtigen Körper durch Fluoreszenz und Fluoreszenzspektren, 1933; Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Bd. 3, H. 4; Ch. Dhéré, Fortschr. Chem. org. Naturstoffe 6, 311 (1950) (обзорная статья).

86. B. Gehauf, J. Goldenson, *Analyt. Chem.* **29**, 276 (1957).
 87. R. C. Cherry, G. M. Faley, C. O. Badgott, R. D. Ednes, H. R. Smith, *Analyt. Chem.* **30**, 1239 (1958).
 88. J. Goldenson, *Analyt. Chem.* **29**, 877 (1957).
 89. J. S. Hanker, R. M. Gamson, H. Klarper, *Analyt. Chem.* **29**, 879 (1957).
 90. J. S. Hanker, A. Gelberg, B. Witten, *Analyt. Chem.* **30**, 93 (1958).
 91. M. Haitinger, *Die Fluoreszenzanalyse in der Mikrochemie*, Wien—Leipzig, 1937; M. Kolthof, *Zs. analyt. Chem.* **70**, 398 (1927); Ф. Файгель, Капельный анализ, стр. 217, ГХТИ, 1933.
 92. А. И. Костякова, *Журн. аналит. химии* **2**, № 1, 27 (1947).
 93. М. Константинова-Шлезингер, *Труды Конференции по аналитической химии*, Изд. АН СССР, III, 1944, стр. 40.
 94. B. J. Thornton, J. C. Speck, *Anal. Chem.* **22**, № 7, 899 (1950).
 95. A. A. Forist, J. C. Speck, *Anal. Chem.* **22**, № 7, 902 (1950).
 96. S. Sass, J. Goldenson, *Anal. Chem.* **23**, № 3, 540 (1951).
 97. F. L. English, J. W. Eppert, *Anal. Chem.* **23**, № 5, 717 (1951).
 98. N. A. Raju, K. Neelkanter, *Current Sci.* **20**, № 12, 322 (1951).
 99. F. Feigl, *Mikrochem. ver. Mikrochim. Acta* **39**, 404 (1952); *Chem. Abstr.* **46**, 11073 (1952).
 100. R. S. Tripson, L. H. Cretcher, *Anal. Chem.* **22**, № 6, 822 (1950).
 101. T. Kariyone, V. Hashimoto, *Nature* **168**, № 4273, 511 (1951).
 102. D. C. Roux, *Nature* **168**, № 4285, 1041 (1951).
 103. Д. Н. Васкевич, *Ж. прикл. химии* **26**, 1213 (1953).
 104. D. M. Hercules, L. B. Rogers, *Anal. Chem.* **30**, 96 (1958).
 105. G. A. Thommes, E. Leininger, *Anal. Chem.* **30**, 113 (1958).
-

ГЛАВА XIII

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

В сельском хозяйстве преимущественно используют приемы люминесцентного анализа, которые мы объединили под общим названием «сортового» люминесцентного анализа.

Исследуемые объекты растительного и животного происхождения представляют в большинстве случаев многокомпонентные системы, и поэтому не легко выяснить, каким именно веществом обусловливается наблюдаемая флуоресценция. Тем не менее применение люминесцентного анализа во многих случаях оказывается эффективным.

1. Диагностика порчи фруктов, овощей и картофеля

Установлено, что изменение флуоресценции огурцов, бобов, белой и красной капусты, картофеля позволяет обнаруживать начало гниения на такой ранней стадии, когда оно неуловимо обычными методами. Эта возможность может быть использована с большой эффективностью при изготовлении овощных консервов. В таблице 20 (из [1]) приведены данные, показывающие, насколько сократился брак овощных консервов в результате применения люминесцентного анализа для отбора консервируемых овощей.

Сказанное справедливо также в отношении апельсинов и других фруктов; в частности, имеются указания на возможность производить люминесцентным методом отбор подмороженных апельсинов в промышленном масштабе.

Таблица 20

Название овощей	При отборе консервируемых овощей путем просмотра срезов			
	в дневном свете		в ультрафиолетовом свете	
	% брака консервов	% доброкачественных консервов	% брака консервов	% доброкачественных консервов
Огурцы	20—25	75—80	8	92
Бобы	12—15	85—88	10	90
Капуста	50—55	45—50	44	56

Так как заготовка фруктов и овощей происходит преимущественно на юге, то в качестве источника ультрафиолетовых лучей можно использовать солнечный свет. Благодаря этому метод становится чрезвычайно простым; все оборудование сводится к солнечному люминескопу, т. е.

ящику или камере той или иной формы с врезанным окошечком. Вставленный в него светофильтр (черное стекло) поглощает всю видимую часть спектра, почти не ослабляя ультрафиолетовых лучей, используемых для возбуждения свечения (ср. гл. I, стр. 15 и гл. VII).

Заднюю сторону ящика или камеры оставляют целиком или частично открытой; через нее ведут наблюдения. Чтобы исключить возможность попадания света на объект помимо светофильтра, с открытой стороны приспособливают к ящику занавеску таким образом, чтобы наблюдатель мог ею прикрываться, или прижимают камеру вплотную к лицу.

В Крыму, в Ялте, П. П. Воронцовым оборудована лаборатория для люминесцентного анализа, в которой светофильтры вставлены в рамы окон. По его данным для наблюдения люминесценции вполне достаточно ультрафиолетовых лучей рассеянного света.

Люминесцентный анализ применен Гиренко и Голландом для определения качества корнеплодов и овощей [2].

Большое внимание уделяют за последние годы контролю качества картофеля. По признаку люминесценции оказалось возможным обнаруживать некоторые его заболевания [3], а также выявлять клубни, поврежденные морозом. В сообщении на конференции по люминесцентному анализу 1955 г. указывалось, что пораженные ткани приобретают в ультрафиолетовых лучах характерное свечение задолго до того, как заболевание становится видимым при обычном свете. Подмороженность клубней, не обнаруживаемая при обычном осмотре, выявляется «по слабому белесовато-голубому свечению» подмороженных мест «на фоне однородного желтого или серо-коричневого свечения здоровой части клубня» [2]. Установлено, что замороженные клубни картофеля или пораженные грибом *Rhizoctonia* флуоресцируют только в определенных ограниченных зонах, а именно: у подмороженного картофеля — по краю, у больных клубней — в пораженных местах. Подвяленные клубни имеют голубую флуоресценцию и дают нитевидные ростки. Хранение при 38° С в течение 5 дней или обработка CO₂ не вызывают флуоресценции. Клубни, проросшие в темноте, флуоресцируют так же, как и непроросшие. Картофель, проросший на свету, имеет под оболочкой слой с оранжевой флуоресценцией. Кипячение картофеля не изменяет голубой флуоресценции, обработка формальдегидом тушит ее. Отмечено, что после замораживания в течение 24 часов свежие срезы картофеля и яблок флуоресцируют, и это свойство не утрачивается и после оттаивания.

В ряде работ искали связь между свойством некоторых клубней картофеля чернеть при варке и их люминесцентными свойствами; однако такой связи установить не удалось [4].

2. Вирусные заболевания

В СССР и за границей большое внимание уделяют вирусным заболеваниям растений. Для их выявления у картофеля [5] была применена следующая методика: клубни картофеля диаметром не менее трех сантиметров разрезались продольно стерильным ножом и срезы просматривались в ультрафиолетовом свете. Люминесценция их — слабая; поэтому возбуждающий свет фокусировался линзой, и срезы просматривались на фоне черного бархата. При исследовании клубней различных сортов картофеля, отобранных как от здоровых растений, так и от растений с признаками мозаики, было установлено, что каждый сорт картофеля имеет свою специфическую люминесценцию, и было обнаружено несколько типов

свечения, соответствующих тем или иным болезненным состояниям клубня. Так, при мозаичных заболеваниях наблюдается люминесценция не только тусклая, голубого цвета в коровой части или заходящая в сердцевинную часть, но и серовато-желтого цвета в форме тяжей и, наконец, люминесценция серовато-синего цвета. При едва заметном для глаза позеленении мякоти клубня появляется люминесценция малинового цвета, а при механических повреждениях — яркая, голубого цвета. Четкость картины люминесценции нарушается наличием у клубней повреждений от ударов, червоточин, фитофторы и т. д.

Для получения более четких результатов по применению люминесцентного метода для ранней диагностики вирусных заболеваний был использован материал экспериментальной работы по изучению мозаичных заболеваний картофеля, проведенной методом клонового выращивания от каждого больного растения отдельно. Применялось искусственное заражение, причем клубень здорового растения разрезался на части; одна часть клубня заражалась внесением кусочка ткани клубня от растения, больного морщинистой мозаикой, и дополнительно соком этого же больного клубня смазывались ростки. Вторая часть клубня высаживалась для контроля на соседней грядке. (Клубни от искусственно зараженных растений и контрольных разрезались продольно, и вся поверхность среза от верхушки до столонной части просматривалась в ультрафиолетовом свете.

Установлено, что срезы клубней сорта Берлихинген с растения, больного морщинистой мозаикой, имеют беловато-голубое свечение, распространяющееся от периферии к сердцевинной части, люминесценция же самих клубней — серовато-фиолетового цвета, ослабленная по сравнению со здоровыми клубнями. У клубней сорта Кобблер с морщинистой мозаикой на основном светло-желтом фоне среза вырисовываются резко ограниченные лучеобразно расходящиеся светлые синевато-серые тяжи, отходящие от столона или кольца проводящей системы. У клубней сорта Эпикур от растений, пораженных полосчатой мозаикой, вся коровая и сердцевинная часть клубня светилась фиолетово-серым свечением, кольцо проводящей системы оставалось желтым. Клубни сорта Потомак с признаками полосчатой мозаики имели голубое свечение, более яркое к периферии клубня.

Как видно из вышесказанного, при практическом применении люминесцентного метода к ранней диагностике вирусных заболеваний картофеля необходимо разработать шкалу люминесценции клубней, как здоровых, так и больных, и уточнить характер свечения различных сортов картофеля при наиболее распространенных вирусных заболеваниях.

Вирусные включения, возникающие при поражении вирусом мозаики растений табака, огурца, лука и других, не люминесцируют. Для их выявления был использован прием флуорохромирования с применением люминесцентной микроскопии.

Кристаллические включения не дают свечения после обработки флуорохромами без предварительной фиксации срезов, в то время как ядра в тех же клетках ярко светятся. Фиксация срезов производилась реактивами Грисса и др. Применялись следующие флуорохромы (растворы в дистиллированной воде 1 : 1000): примулин, берберинсульфат, ауорофосфин, акридиновый оранжевый. По мнению Гольдина [6], прекрасным фиксатором для вирусных включений является 1%-ный водный раствор пикриновой кислоты с последующей тщательной промывкой.

Из испытанных четырех флуорохромов наименее пригодным оказался примулин, вызывающий яркое желто-зеленое свечение протоплазмы,

полностью маскирующее флуоресценцию включений. Берберинсульфат также вызывает свечение протоплазмы, но включения флуоресцируют еще сильнее и легко обнаруживаются. Наиболее четкие результаты были получены с ауорофосфином и акридиновым оранжевым.

Методика обработки срезов применялась следующая: 1) фиксация срезов пикриновой кислотой в течение двух и более часов, 2) тщательное промывание водой, 3) обработка флуорохромом в течение 15—30 мин., 4) промывание водой и наблюдение.

Кристаллические включения после обработки акридиновым оранжевым флуоресцируют ярким зеленым светом, а ядра — зеленовато-синим. При более длительном воздействии акридиновым оранжевым включения флуоресцируют оранжевым светом, а ядро приобретает оранжево-розовый оттенок. Обработка среза 5%-ным раствором трихлоруксусной кислоты в течение 15, 60 и 120 мин. при 90° не изменяла флуоресценцию включений. Но ядро в этом случае не флуоресцирует, гасилось также и свечение хлоропластов. Длительное воздействие на срез трихлоруксусной кислотой при 90° приводит к распаду ткани на отдельные клетки, в которых ярко люминесцируют включения.

Состав другого типа вирусных включений — X-тела — неоднороден. Один из штаммов вируса мозаики табака характеризуется тремя различными включениями, образующимися в одних и тех же клетках пораженного растения: кристаллические пластинки, игловидные кристаллы и плотные сильно вакуолизированные X-тела. При обработке акридиновым оранжевым X-тела не давали свечения, а кристаллические включения давали яркую зеленую люминесценцию. При той же обработке срезов мозаичного лука ядро давало желтовато-оранжевое, а X-тела — коричнево-красное свечение.

Исследования показали, что люминесцентно-микроскопический анализ дает также возможность отличать зернистые скопления, возникающие в результате разрушения хлоропластов, от сходных с этими образованиями X-тел. Подобно хлоропластам, и зернистые скопления, образующиеся в результате их разрушения, обладают собственной флуоресценцией.

3. Оценка качества и обнаружение дефектов пищевых продуктов

В иностранной литературе много работ посвящено оценке качества [7], [8] и обнаружению дефектов [9] пищевых продуктов при помощи люминесцентного анализа.

М о л о к о. Согласно данным работы [10], для молока от коров с больным выменем характерны бледные тона флуоресценции желтого цвета. Флуоресценция молока здоровых коров — желто-коричневого цвета; она исчезает при подкислении до pH меньше 4 и при подщелачивании до pH больше 8. Необходимо более детальное бактериологическое и микроскопическое исследование молока во всех тех случаях, когда флуоресценция желто-коричневого цвета дает отклонения от нормы. (Об определении витамина в молоке см. гл. XII, стр. 203.)

Я й ц а и я и ч н ы й п о р о ш о к. Люминесцентный анализ применен для обнаружения порчи яиц, вызываемой бактериями *Pseudomonas fluorescens* [11]; вначале они образуют колонии на внутренней стороне скорлупы, а через 1—8 дней проникают в белок, при этом белок начинает флуоресцировать. При флуоресценции всего белка количество бактерий достигает 10^7 в 1 г и может увеличиться до 10^9 при дальнейшем хранении. Установлено, что яйца, хранившиеся после носки 58 дней при

16° и 85—87% относительной влажности воздуха, инфицировались легче, чем свежие.

В ряде статей дается описание флуоресцентного метода в применении к оценке качества яичного порошка [12], [13]. Последний обрабатывают хлороформом для удаления жиров. Сухой оставшийся порошок взбалтывают с раствором поваренной соли и сравнивают его флуоресценцию со стандартом. Тот же автор, Пирс, подробно обследовал, у каких пищевых продуктов развивается флуоресценция при их хранении [14]. Определение флуоресценции продукта для оценки его качества он считает целесообразным в отношении обезвоженной свинины, бисквитов, масла, сухих бананов и пастернака, но не в отношении молочного порошка.

М я с о. В работе 1943 г. изучается флуоресценция паразитов в мясе [15]. Указывается, что *Cysticercus cellulosae* и живые *Cysticercus bovis* обнаруживают флуоресценцию красного цвета. Другие паразиты не флуоресцируют.

По Крисилову *Cysticercus cellulosae* и *Cysticercus bovis* не отличаются друг от друга ни по цвету, ни по яркости люминесценции; равным образом одинаково флуоресцируют живые и убитые *Cysticercus cellulosae* и *Cysticercus bovis*. Ярво-красная люминесценция изолированных цистицерков обусловлена жидкостью, находящейся в пузырьке паразита [16].

Р ы б а. В СССР в Институте питания велась работа по определению люминесцентным методом порчи рыбы и установлена возможность в ряде случаев обнаруживать порчу на ранних стадиях, когда она еще неуловима органолептическими методами [17].

Плесневые грибы рода *Aspergillus*. Ботаническим институтом АН СССР проведено детальное исследование микроскопических грибов рода *Aspergillus* Mich. Показано, что виды плесневых грибов из рода *Aspergillus* обладают различными люминесцентными свойствами [18]. Характерная флуоресценция аспергиллов в ультрафиолетовом свете достигается в результате предварительной обработки колоний грибов различными жидкими химическими реактивами. Колонии грибов, выращенные на сусло-агаре (рН=5,8 Ball. 7°) в чашках Петри в течение двух недель при температуре 23—25°, разрезались на 13—14 равных квадратиков размером примерно 4 см², после чего каждый квадратик обрабатывался тем или иным реактивом из числа нижеследующих: этиловый спирт, серный эфир, хлороформ, бензол, ацетон, бензин и 0,1 н. водные растворы соляной, азотной, серной, уксусной кислот и натриевой щелочи. Обработка колоний *Aspergillus* позволяет выявить в ультрафиолетовом свете флуоресценцию с различными для каждого вида гриба качественными особенностями. Приведены описания флуоресценции: *A. versicolor*, *A. fumigatus*, *A. citrosporus*, *A. Sydowi*, *A. ustus*, *A. niger*, *A. glaucus*.

Эти данные дают возможность методами люминесцентного анализа обнаруживать аспергиллы в пищевых продуктах и промышленных материалах, в которых обычными способами выявить их трудно или совсем не удается.

4. Оценка качества и распознавание видов муки

Наблюдения флуоресценции можно использовать и для оценки качества муки. Так, наружный слой в зерне светится более интенсивным синим светом, чем зерно в целом; соответственно флуоресценция муки, богатой отрубями, ярче и синее по сравнению с безотрубным помолом. Более яркой флуоресценцией обладают и зародыши зерна; повышение

их содержания в муке должно сказаться на цвете и яркости ее флуоресценции. Надо, однако, помнить, что люминесценция может зависеть не только от сорта зерна и помола, но и от ряда других условий. Так, увеличение влажности муки может вызывать переход синего свечения в ярко-голубое; высушенная мука обладает флуоресценцией желтого цвета. Колонии грибков и бактерий в муке также могут флуоресцировать. Спороносные палочки дают флуоресценцию красного цвета, протей — голубого, кишечная палочка — зеленого цвета [19].

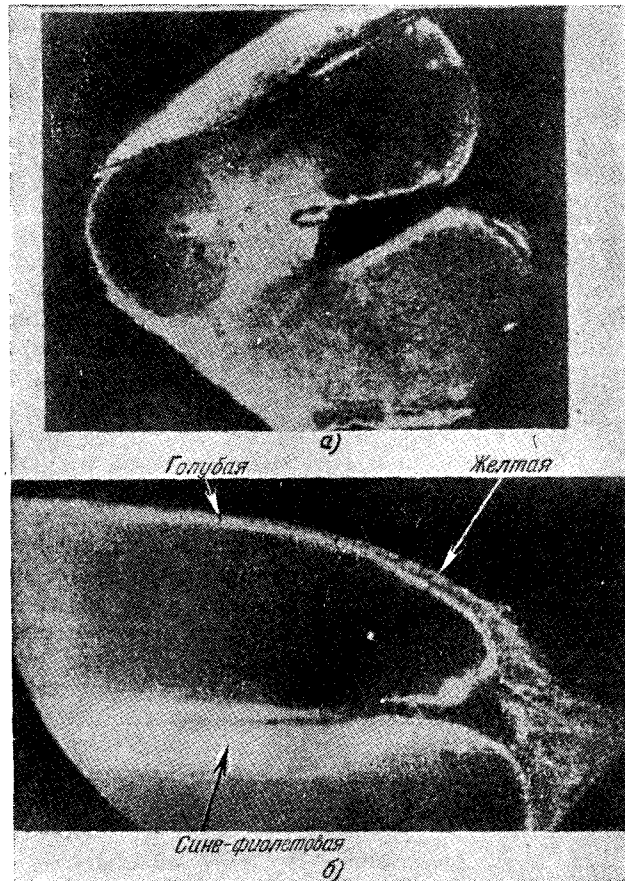


Рис. 57. Люминесцентная микрофотография разреза зерна:

а — поперечного, б — продольного.

Для практика представляет существенный интерес различать по флуоресценции муку ржаную и пшеничную. К сожалению, цвет их флуоресценции настолько близок, что это невыполнимо; однако применение приема люминесцентного анализа — «покраски» флуорохромами — позволило разработать соответствующую методику. Установлено, что различие в свечении видов муки становится хорошо заметным после окрашивания ее раствором диметилнафтейродина концентрации 0,01%. Пшеничная мука приобретает ярко-оранжевое свечение, ржаная и ячменная — серо-оранжевое,

овсяная — серо-зеленое. Резкая разница наблюдается в свечении муки из вики яровой и озимой. Мука из вики яровой флуоресцирует ярко-оранжевым светом, а из вики озимой — ярким зелено-голубым светом. Примесь муки из вики яровой и озимой к муке пшеничной, ржаной, ячменной и овсяной легко узнается по флуоресценции.

Повреждение зерна клопом-черепашкой [20]. Наблюдения над пшеницей, пораженной клопом-черепашкой, проведенные в ФИАН с целью изыскания быстрого флуоресцентного метода обнаружения поврежденных зерен, показали, что последние во многих случаях светились ярче; однако изменение флуоресценции связано с укусом вредителя лишь косвенно и обуславливается механическим повреждением

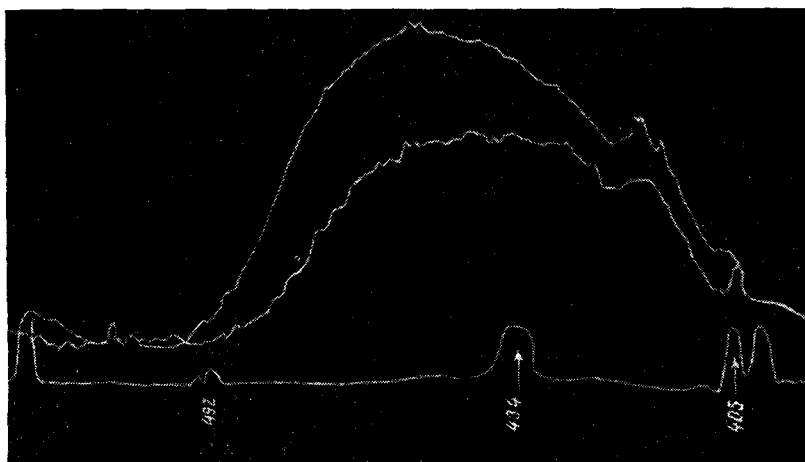


Рис. 58. Микрофотограммы спектров флуоресценции водных вытяжек из зерна поврежденного (верхняя кривая) и неповрежденного (нижняя кривая).

оболочки зерна, так как последняя светится слабее, чем лежащий под ней белковый слой. Вместе с тем и химические превращения, имеющие место в зерне в результате укуса клопом-черепашкой, обуславливают изменение флуоресценции некоторых компонентов, входящих в состав зерна. Микрофотографии (рис. 57, а и б) дают общую картину флуоресценции разрезов зерна пшеницы. Под люминесцентным микроскопом фон разрезов зерна у пшеницы, поврежденной клопом-черепашкой, кажется более зеленым. Это различие выявляется отчетливее при сравнении флуоресценции водных экстрактов из дробленого зерна — пораженного и здорового. На рис. 58 приведены микрофотограммы соответствующих спектров, из которых видно, что в экстрактах из поврежденного зерна максимум почернения, а следовательно, и максимум интенсивности в спектре флуоресценции смещен в сторону длинных волн: цвет флуоресценции кажется более зеленым. Для практика небезынтересен тот факт, что при отмывании клейковины первая вода светится довольно ярко голубым светом; при дальнейшем же промывании флуоресценция промывных вод не только ослабевает, но и изменяется ее цвет — он становится фиолетовым. Вероятно, этим путем можно контролировать полноту промывки клейковины.

Поскольку различающиеся своей флуоресценцией химические компоненты зерна локализируются в отдельных его участках, флуоресценция

поперечного разреза зерна, естественно, не может быть равномерной; как видно на приведенных микрофотографиях (рис. 57), ярко флуоресцирующие участки резко выделяются на более бледном фоне. От капли щелочи флуоресценция разреза зерна становится много ярче и зеленее.

5. Распознавание видов и сортов семян

Первые попытки использования флуоресценции для определения подлинности семян были сделаны в 1927 г. в отношении сортов пивоваренного ячменя. Дальнейшие работы проводились с целью распознавания по флуоресценции различных семян и установления подлинности семян в семенном контроле; изучалась флуоресценция корешков фасоли и исследовалась возможность определения вида семян по флуоресценции водных вытяжек из них.

Работа по выяснению возможностей применения люминесцентного анализа в семенном контроле проводилась в Советском Союзе в отделе семеноведения Всесоюзного института растениеводства по семенам как культурных, так и сорных растений [21]. Изучение флуоресценции семян большого количества сортов овса показало, что белозерным сортам овса свойственно голубоватое свечение различных оттенков, а семенам желтозерных сортов овса — темно-коричневое. Это различие по флуоресценции широко используется семенной лабораторией Госкомиссии по сортоиспытанию для определения белозерных и желтозерных сортов овса, цветочные пленки семян которых нередко теряют нормальную окраску, что затрудняет определение по морфологическим признакам. Люминесцентный метод дает возможность безошибочно устанавливать примесь семян желтозерного овса в белозерном и наоборот, а также различать некоторые сорта овса, например белозерный сорт овса Победа и желтозерный сорт Золотой дождь. Наблюдается различие у некоторых сортов ячменя. Эндосперм семян сорта ячменя Прекоциус 143 флуоресцирует ярко-фиолетовым светом, а эндосперм сорта ячменя Золотой — темно-фиолетовым.

Кроме овса, в семенной практике люминесцентный метод применяется в ряде культур для обнаружения засоряющих их семян. В горохе выявляется примесь пелюшки по ее флуоресценции коричневого цвета, в чечевице — примесь плоской вики по флуоресценции на изломе семени или после снятия части оболочки семян; семена чечевицы при этом дают зеленое свечение, а семена плоской вики — розовое. Трудноразличимые по морфологическим признакам семена кормовой травы пырея бескорневищного (*Agropyrum tenerum*) и пырея ползучего (*Agropyrum repens*) легко различаются по флуоресценции; семена пырея бескорневищного флуоресцируют фиолетово-голубоватым светом, а люминесценция пырея ползучего — тусклая, коричневого цвета.

Распознавание видов многоукосного райграса (*Lolium multiflorum*) и пастбищного райграса (*Lolium perenne*) проводят после проращивания семян на фильтровальной бумаге в течение 14 дней. Проростки многоукосного райграса дают на месте нахождения их корешков на фильтровальной бумаге яркое светло-голубое свечение, отсутствующее у проростков пастбищного райграса. При искусственном оплодотворении в потомстве многоукосного райграса наблюдаются и нефлуоресцирующие проростки. Люминесцентный метод включен в международные правила по определению качества семян для установления процентного содержания люминесцирующих и нелюминесцирующих семян райграса; первый под-

счет рекомендуется производить на 6-й день и окончательный — на 14-й день проращивания [22].

В Государственном контрольно-семенном институте в Будапеште (Венгрия) разработана следующая методика для определения указанных видов райграса. Ленту из фильтровальной бумаги в течение двух суток намачивают в 2%-ном растворе КОН и затем на край ее раскладывают семена райграса. Ленту, с подложенной под нее смывтой кинолентой, сворачивают в трубочку, нижний конец которой опускают в воду, налитую в чашку Коха. Через 14 дней проростки райграса удаляют и бумагу просматривают под кварцевой лампой. Следы от корешков многоукосного райграса ярко светятся, и это свечение остается на длительное время. Различные сорта фильтровальной бумаги, примененные в опытах с *Lolium multiflorum*, оказывают не одинаковое влияние на свойство оставшихся на бумаге следов от корешков; флуоресцирующие отпечатки могут обуславливаться не только корневыми выделениями, но и продуктами их взаимодействия с веществами, содержащимися в бумаге [23].

Интересен способ обнаружения примеси семян полевой горчицы в семенах ярового рапса, засорителем которого она является. Семена полевой горчицы содержат вещество, которое флуоресцирует при взаимодействии с нормальным раствором КОН. Указанным раствором смачивают фильтровальную бумагу в чашке Петри, раскладывают на нее семена ярового рапса и выдерживают их при 18° в течение 30—45 мин., после чего просматривают в ультрафиолетовом свете. Семена полевой горчицы легко различимы по их флуоресценции. Метод этот разработан Институтым опытного дела в Иене (ГДР)*.

Имеются данные о возможности применения люминесцентного метода к определению некоторых групп сортов огурцов, арбузов и дынь по флуоресценции сухих семян, разрезанных вдоль, а также для определения трудноразличимых видов семян сорнополевых горошков, крестоцветных и других видов сорных растений [24].

Люминесцентный метод в отношении трудноразличимых по морфологическим признакам семян не только значительно облегчает трудоемкую работу, но и дает возможность получать более точные данные анализа; это имеет большое практическое значение при оценке качества семян по установленным для них стандартам.

6. Определение жизнеспособности семян

Люминесцентный анализ находит применение и для выявления качества семян; по-видимому, в этом направлении использованы еще не все возможности.

Отмечено, что у семян гороха (*Pisum sativum*) и у семян фасоли (*Phaseolus vulgaris*) нового урожая флуоресценция фиолетовая с красными полосками, старые же семена этих культур не люминесцируют. (У семян льна (*Linum usitatissimum*) в зависимости от возраста наблюдается люминесценция от темно-голубой до бледно-желтой.) Для свежих семян конопли (*Cannabis sativa*) и чечевицы (*Ervum lens*) характерна зеленая флуоресценция, а для старых — белая, слабая. Если на семенах имеются бактерии или плесень, то вместо нормальной люминесценции наблюдаются черные или ярко-желтые пятна.

*) См. [1] в списке дополнительной литературы.

Можно до некоторой степени различать свежие неповрежденные и старые поврежденные семена пшеницы и ржи. По характеру свечения семена пшеницы могут быть распределены на группы, характеризующиеся ярко-голубой, слабо-голубой, ярко-зеленой и тусклой коричневой люминесценцией. У семян пшеницы с зеленой люминесценцией цвет свечения при хранении постепенно переходит в голубой. На это указывает и Данкворт в своей книге [1].

(Зерна пшеницы, поврежденные плесенью, вредителями или самовозгоранием, флуоресцируют другим цветом и ярче здоровых; флуоресценция синего цвета характеризует здоровое полноценное и зрелое зерно, флуоресценция же желтого цвета наблюдается у зерен неполноценных, пострадавших от сырости.)

За последние годы выяснилась возможность эффективного использования люминесцентного анализа для решения еще одной чрезвычайно важной задачи — определения жизнеспособности семян.

В результате работ, проводившихся в СССР за последние годы, разработан метод определения жизнеспособности семян по флуоресценции их срезов [24]. Начаты были эти исследования в Государственном оптическом институте. Работой, проведенной в Центральной контрольно-семенной лаборатории МСХ СССР на большом фактическом материале с семенами различных сельскохозяйственных культур, установлена пригодность метода в применении к овсу, кукурузе, пшенице, ячменю и льну.

О в е с. Для определения жизнеспособности семян овса предварительно освобождают их от цветочных пленок и производят косой срез через зародыш каждого семени; после этого срезы просматривают в ультрафиолетовом свете. Ткань зародышей жизнеспособных семян овса имеет синеватое свечение, а ткань нежизнеспособных светится другими цветами.

Т а б л и ц а 21

Сравнительные данные по всхожести и жизнеспособности семян овса

Название сорта	Год урожая	Всхожесть в %	Жизнеспособность в %, установленная	
			окрашиванием индиго-кармином	люминесцентным методом
Советский	1953	93	94	95
Победа	1953	97	97	96
Советский	1954	96	99	98
Чакинский 1812	1954	97	98	100
Вятский 6522	1954	97	99	100
Золотой дождь	1954	90	94	100
Советский	1954	94	98	100

По вопросу о химических компонентах, обуславливающих люминесценцию, имеются указания в работе [25]. Показано, что флуоресцирующие гликозиды или гликозидные комплексы присутствуют главным образом в меристеме корней овса, а скополетин и его гликозид — в растущей и более взрослой части корня, в меристеме же они почти отсутствуют.

К у к у р у з а. Для определения жизнеспособности семян кукурузы Центральной контрольно-семенной лабораторией разработана следующая методика: семена разрезают вдоль зародыша на две половинки, по одной половинке от каждого семени помещают в чашки Петри или Коха на слегка увлажненную фильтровальную бумагу срезами вверх. Зародыши жизне-

способных семян кукурузы флуоресцируют ярким голубовато-фиолетовым светом. У семян с нормальной влажностью (14—15%) и высокой жизнеспособностью свечение зародышей яркое, причем свечение тем ярче, чем семена лучше. При повышенной влажности семян яркость свечения снижается. Ткань щитков свежееубранных семян имеет зеленоватое свечение на ярком голубом фоне. Зародыши нежизнеспособных семян флуоресцируют желтовато-белым, коричневым, темно-серым, желтовато-зеленым светом. Цвет флуоресценции пересушенных семян кукурузы — от желтоватого до коричневого, а подмороженных, потерявших способность к прорастанию, — зеленовато-серый. Роговидная часть эндосперма с плодовой оболочкой желтого цвета флуоресцирует светло-коричневым светом, а с белой оболочкой — светло-фиолетовым. У мучнистой части эндосперма флуоресценция светло-фиолетовая или голубовато-фиолетовая. Отбор нежизнеспособных семян кукурузы проводят во время просмотра в ультрафиолетовом свете невооруженным глазом или при помощи лупы.

Таблица 22

Сравнительные данные по всхожести и жизнеспособности семян кукурузы

Название сорта	Год урожая	Всхожесть в %	Жизнеспособность в % установленная	
			окрашиванием индиго-кар- мином	люминесцент- ным методом
Гибрид Успех	1953	100	98	98
» ВИР-42	1953	98	98	100
» ВИР-33	1953	96	98	98
Лиминг	1953	96	96	98
Гибрид Одесский 1	1953	94	94	96
» Днепропетровский	1953	92	94	94
» ВИР-25	1954	96	96	98
Рисовая 645	1954	94	96	96
Рядовая	1954	84	92	90
»	1954	33	34	36
»	1954	62	66	64
Стерлинг	1955	98	98	100
Волжская	1955	98	100	100
Северодакотская	1955	100	98	98
Рядовая	1955	86	80	90

Пшеница и ячмень. Не у всех злаков различие люминесценции срезов семян в зависимости от их жизнеспособности выражено отчетливо. В таких случаях пользуются другим приемом люминесцентного анализа — окраской флуоресцентными красителями. Так, жизнеспособность семян пшеницы, ржи и ячменя определяют после предварительного окрашивания срезов зародышей флуорохромами, увеличивающими контрастность свечения зародыша и эндосперма. Для окраски срезов зародышей пшеницы применялся водно-спиртовой раствор родамина 6 ЖДН концентрации 0,00005—0,0001 г/см³, а для окраски срезов ячменя — содовый раствор (1% Na₂CO₃) акридинового оранжевого концентрации 0,0003—0,0005 г/см³. Капля флуорохрома при помощи тонкой пипетки помещалась непосредственно на срез зародыша, после чего избыток флуорохрома удалялся промыванием водой. Прокрашенные срезы жизнеспособных семян пшеницы имеют яркое оранжево-желтое или желтое свечение, а ячменя — яркое желтое. Срезы зародышей нежизнеспособных семян пшеницы

и ячменя флуоресцируют тусклым желтовато-коричневым светом различных оттенков. Эндосперм пшеницы и ячменя флуоресцирует бледно-фиолетовым светом.

Кроме указанных флуорохромов применялись также эозин, флуоресцеин, метиленовый голубой, родулин, корифосфин, примулин, сафранин, антрацен, диметилнафтейродин, метилумбеллиферон и др. Наиболее четкое различие в свечении жизнеспособных и нежизнеспособных семян пшеницы, ржи и ячменя дает диметилнафтейродин.

Для определения жизнеспособности семян с помощью диметилнафтейродина выработана следующая методика: семена пшеницы, ржи и ячменя намачивают в воде комнатной температуры в течение 2—4 часов, разрезают вдоль зародыша и по одной половинке от каждого семени помещают для окраски в чашку Петри со спирто-водным раствором диметилнафтейродина концентрации 0,01%; по истечении 5 мин. два раза промывают водой и затем просматривают в ультрафиолетовом свете. Срезы зародышей жизнеспособных семян флуоресцируют золотисто-желтым светом и слабо-зеленовато-желтым, а нежизнеспособных — коричневым и серым светом.

Таблица 23

Сравнительные данные по всхожести и жизнеспособности семян пшеницы и ячменя

Название сорта	Год урожая	Всхожесть в %	Жизнеспособность в %, установленная	
			окрашиванием индиго-кармином	люминесцентным методом
Пшеница				
Цезиум 111	1953	95	99	98
Горденформе 27	1953	91	94	96
Дюрабль	1954	87	86	84
Одесская 3	1954	94	92	96
Альбидум 3700	1954	94	97	97
Диамант	1954	87	90	89
Лютесценс 62	1954	93	92	93
Мильтурум 321	1954	97	99	98
Мильтурум 553	1954	97	97	97
Лютесценс 62	1955	98	98	98
Саррубра	Неизв.	0	1	1
Московка	1954	83	86	87
Ячмень				
Ганна Лоосдорфская	1953	93	95	93
Винер	1952	99	98	99
Грушевский	1954	95	95	94
Прекопиус	1955	94	97	96
Уманский	1955	84	83	87
Одесский 9	1955	98	97	95
Одесский 14	1955	84	82	80
Одесский 9	1955	45	42	41
Одесский 9	1955	88	90	90
Ганна Лоосдорфская	1955	86	83	85

Л е н. Жизнеспособность семян льна определяют на сухих семенах, разрезанных вдоль семени по наибольшей плоскости. Жизнеспособные семена льна-долгунца флуоресцируют ярко-голубым светом, а семена

льна-масличного — ярко-желтым или ярко-зеленым. Нежизнеспособные семена льна светятся ярко-белым или кирпично-красным светом. Семена с темно-голубым свечением корешка являются также нежизнеспособными. Зараженные семена льна имеют такое же свечение, как и здоровые. Поэтому люминесцентный метод не всегда позволяет устанавливать жизнеспособность семян льна.

К о н о п л я. Семена конопли намачивают в воде комнатной температуры на 2—4 часа (в зависимости от их влажности); после этого семена разрезают вдоль зародыша на две половинки, заливают 0,01%-ным спиртовым раствором диметилнафтейродина, промывают два раза водой и просматривают в ультрафиолетовом свете. Срезы жизнеспособных семян конопли флуоресцируют золотисто-желтым светом, а нежизнеспособных — коричневым или серым.

К р е с т о ц в е т н ы е. В 1952 г. была опубликована работа [26], проводившаяся на нескольких видах семян семейства крестоцветных. В описанных автором опытах семена капусты и редьки прорастивались на фильтровальной бумаге, насыщенной дистиллированной водой. Наблюдения показали, что семена, вокруг которых через 24 часа образуется кольцо, флуоресцирующее синим светом, не прорастают, а семена, выделяющие флуоресцирующее вещество в небольшом количестве, прорастают, но проростки их, не достигнув развития, погибают. Семена, не выделяющие флуоресцирующих веществ, прорастают нормально. Связь между выделением флуоресцирующих веществ набухающими семенами и их прорастанием объясняется тем, что у мертвых поврежденных семян крестоцветных культур растворимые вещества, содержащиеся в клетках, при смачивании выделяются в окружающую среду.

Выделение флуоресцирующих веществ при набухании отмечено у семян и плодов растений, относящихся к различным семействам, но какова роль их при прорастании — пока не выяснено.

Мертвые семена некоторых бобовых культур, в частности вики яровой, выделяют на смоченную фильтровальную бумагу вещество, дающее ярко-оранжевое или бледно-желтое свечение. Живые же прорастающие семена флуоресцирующего вещества не выделяют. Семена люцерны (*Medicago sativa*) выделяют флуоресцирующие вещества после смачивания фильтровальной бумаги раствором щелочи.

7. Диагностика зараженности семян яровой пшеницы пыльной головней и желтой ржавчиной

С целью выяснения возможности применения люминесцентного анализа для определения зараженности семян яровой пшеницы пыльной головней (*Ustilago tritici*) проведена работа с семенами пшеницы, собранными из искусственно зараженных ею колосьев и из контрольных, т. е. незараженных. Оказалось, что здоровые семена флуоресцируют ровным сине-голубым светом, тогда как зараженные остаются темными, тусклыми. Систематическое наблюдение флуоресценции по мере созревания зерна показало, что различие в характере флуоресценции выявляется вполне в фазу полного созревания: у здорового зерна флуоресценция ровная голубого цвета, а у зараженных — прерывистая, отдельными точками.

Изменение характера флуоресценции может обуславливаться не только наличием *Ustilago tritici*, но и может вызываться сапрофитными грибами, а также паразитными грибами из рода *Fusarium*, *Helminthosporium* и бактериями. Аналогичное явление наблюдается на горохе:

здоровые семена гороха флуоресцируют голубоватым светом, а пораженные грибами из рода *Ascochyta* и *Fusarium* — коричнево-красными пятнами. На клубочках свеклы, пораженных грибом *Phoma*, выявляются точки, светящиеся белым матовым светом. Флуоресценция в данном случае вызывается бесцветными спорами, просвечивающими через устье плодового тела гриба — пикниды. >

Во Всесоюзном институте защиты растений разрабатывается методика люминесцентного макро- и микроанализа на скрытые формы грибной инфекции в вегетативных и репродуктивных органах растений [27] *). Особый интерес имеют работы по желтой ржавчине пшеницы (возбудитель — гриб *Puccinia glumarum* Frikss et Neum). Мицелий этого гриба на ранней стадии развития трудноразличим в тканях зараженных листьев при микроскопировании срезов в обычном свете. В ультрафиолетовом свете в люминесцентном микроскопе мицелий четко дифференцируется благодаря вторичной флуоресценции, возникающей при окрашивании срезов флуорохромами (из них наиболее эффективен трипофлавин и бриллиант-грюн). Изменение цвета и интенсивности первичной флуоресценции хлоропластов в клетках зараженных листьев также дает возможность судить о наличии в них скрытой инфекции ржавчины.

Известно, что уредоспоры *Puccinia glumarum* в лабораторных условиях слабо прорастают и тем затрудняют определение их жизнеспособности. При применении люминесцентной микроскопии выяснилось, что критерием жизнеспособности уредоспор может быть цвет их флуоресценции. Нормальные уредоспоры флуоресцируют грязно-зеленым светом, а незрелые и мертвые — ярко-голубым.

Применение люминесцентного метода в области микологии и в фитопатологии представляется весьма перспективным [27].

8. Применение люминесцентного анализа в селекционной работе

Шелководство. В работе Умарова [28] показана возможность использования люминесцентного анализа селекционерами и племшелкстанциями при улучшении существующих пород шелкопрядов и при выведении новых. Наблюдения люминесценции коконов показали, что белые коконы с желтым свечением обуславливают полосатость окрашиваемых шелковых тканей, и поэтому они нежелательны. Для установления характера свечения в люминесцентную камеру помещают 400—600 коконов в один или два ряда. По цвету флуоресценции коконы делятся на сине-фиолетовые, желтые и желто-фиолетовые. Последние два свечения обусловлены веществом, содержащимся в оболочке кокона и сходным по химическим свойствам с желтым пигментом моркови [29] (о болезнях шелкопряда ср. гл. XII, стр. 209).

Селекция гриба *Eremothecium ashbyii*. Люминесцентная микроскопия была использована при селекции *Eremothecium ashbyii*. На ранних стадиях развития оказалось возможным определять культуры активные и неактивные в отношении образования рибофлавина. В противоположность прежнему представлению, что рибофлавин (витамин В₂) образуется в вакуолях, люминесцентно-микроскопическими исследованиями установлено, что витамин начинает образовываться в прото-

*) Нижеследующий текст параграфа составлен для книги автором работы [27] Н. А. Наумовой.

плазме клетки молодых гифов гриба *Eremothecium ashbyii*, а затем перемещается в вакуоли, накапливаясь в них в довольно значительных количествах; из вакуолей рибофлавин выводится в среду. Обработка гриба флуорохромами (акридиновым оранжевым) способствовала выявлению ядер и волютина, а флуорохромы (родамин, примулин и тиазин красный) дали возможность различать живые и мертвые клетки в мицелии этого гриба [28].

Птицеводство. Наблюдения люминесценции применены в селекционной работе с птицами [30]. Исследовалось «качество кур, несших яйца, различающиеся по флуоресценции». По характеру люминесценции яиц установлено 8 групп кур русской белой породы. В результате проведенной работы автор пришел к следующим выводам: 1) каждая курица откладывает яйца преимущественно с флуоресценцией, характерной для одной определенной группы, 2) имеется зависимость между типом флуоресценции яиц и яйценоскостью снесших их кур, 3) оценку способности к яйцекладке можно проводить в молодом возрасте кур по флуоресценции одного яйца, снесенного за первый месяц кладки. По мнению автора, применение флуоресценции возможно как при массовой, так и при индивидуальной селекции.

9. Другие применения люминесцентного анализа

Передвижение воды в растениях. В работе [31] показано, что введение в ткани растения флуоресцеина (0,1% раствора) дает возможность проследить пути передвижения воды в растениях.

В опытах с помидорами [32] через 5 часов после погружения в раствор флуоресцеина листа с отрезанной верхушкой флуоресцеин обнаруживался не только в этом листе, но и в других листьях на той же стороне побега. Установлено, что перемещение вещества в продольном направлении осуществляется легче, чем в поперечном, и что вода проводится по ксилеме и в тех частях растения, где убиты живые клетки.

Установление степени повреждения растительных тканей. Имеются указания о возможности использования собственной люминесценции *) клеточного сока для установления степени повреждения растительных тканей и распределения в них живых и мертвых клеток. При нарушении строения плазмы и уничтожении полупроницаемости из клетки медленно выделяется флуоресцирующее вещество. Вследствие адсорбции флуоресцирующих веществ иногда наблюдается флуоресценция протоплазмы и стенок клеток. На частично поврежденной ткани видны сильно флуоресцирующие живые клетки и темные пятна мертвых клеток. Через 5—10 часов после отмирания клеток продолжают флуоресцировать хлоропласты, через 20 часов под флуоресцентным микроскопом все части среза выглядят темными.

Люминесцентный микроскоп, фазоконтрастный и ультрамикроскоп были применены для исследования изменений окрашенных флуорохромами клеток эпидермиса чешуек лука (*Allium sera*), наблюдаемых непосредственно после воздействия рентгеновскими лучами; оказалось, что в результате первичного действия лучей в отдельных клетках появляются поврежденные участки в виде четких пятен, окрашивающихся акридиновым оранжевым и другими флуорохромами в оранжевый или красный цвет и расположенных у продольных стенок клеточной оболочки. При длительном облучении повреждение распространяется даже на соседние клетки.

*) О собственной люминесценции злаковых и бобовых см. [33].

Исследование показало, что у клеток с повреждениями от воздействия рентгеновскими лучами плазмолиз наступает раньше, чем у неповрежденных клеток. Клетки с очень большими участками повреждений утрачивают способность к плазмолизу [35].

В работе [34] описано применение люминесцентной микроскопии и флуорохромирования для изучения срезов семян злаков и выявления белка. Препараты обрабатывались в течение одной минуты водным раствором тиозолового желтого, промывались и покрывались 65%-ным раствором сахарозы. Протеин избирательно окрашивается тиозоловым желтым и обнаруживается по золотисто-желтой флуоресценции.

Оценка почв. Люминесцентный анализ применяют и для оценки почв. В [36] дается способ подсчета клеток почвенных водорослей методом люминесцентной микроскопии.

Владыченским проведено исследование люминесценции гуминовых веществ из различных почв [37].

Распознавание удобрений. В иностранной литературе имеются указания на применение люминесцентного анализа для распознавания удобрений, трудноразличимых по внешнему виду. Например, фосфорнокислую известь, полученную из костей, легко отличить по ее флуоресценции от природного фосфорита. Просмотр удобрений, применяемых у нас, показал ясное отличие флуоресценции образцов костяной муки по сравнению с суперфосфатом; по внешнему виду эти образцы были трудноразличимы. Использование люминесцентного анализа, быть может, и в этом направлении окажется полезным.

В этой главе рассмотрены случаи применения люминесцентного анализа, которые характерны для сельского хозяйства и смежных областей. Следует, однако, подчеркнуть, что люминесцентный анализ можно эффективно использовать и во многих других случаях, например для количественных определений (см. гл. XII, Б) или выявления мест локализации веществ, присутствующих в малых количествах. Люминесцентный метод был использован Нестеровой [38] для определения витамина В в корнях и выяснения влияния его на лактацию коров.

ЛИТЕРАТУРА к гл. XIII

1. P. W. Danckwortt und J. Eisenbrand, Lumineszenzanalyse im filtrierten ultravioletten Licht, 1956, Leipzig, 6-е изд.
2. В. Н. Гиренко, М. И. Голланд, Люминесцентный анализ картофеля, овощей, плодов и других товаров, Госторгиздат, 1954.
3. J. Odehnal, Sbornik Cheské Akad. Zemedelské 16, 218 (1941); Chem. Abstr. 37, 5928 (1943); W. Newton and W. Jones, Canad. J. Res. C 23, 76 (1945); Chem. Abstr. 40, 4816 (1946).
4. F. Bowman, F. Hanning, Food Research 16, 462 (1951); Chem. Abstr. 46, 10910 (1952).
5. А. А. Варшалович, Н. А. Чуксанова, Н. С. Яковлева, Вестник Ленинградского университета, № 1 (1954).
6. М. И. Гольдин, ДАН СССР 95, № 3, 657 (1954).
7. M. R. Shetlar, C. R. Shella and J. F. Luman, J. Dairy Sci. 28, 87 (1945); Chem. Abstr. 40, 1607 (1946). Определение рибофлавина в шоколаде и цельном молоке флуоресцентным методом; P. W. Hodler and G. Garnatz, Cereal Chem. 22, 559 (1945); Chem. Abstr. 40, 2232 (1946). Простая флуоресцентная реакция на рибофлавин в обогащенной муке.
8. Fr. Grammer, Angew. Chem. 62, 73 (1950). Применение к сахарам.
9. G. Brakhage, Arch. Kinderheilkunde 129, 49 (1943); Chem. Abstr. 38, 5928 (1944).
J. Keny, R. Weston, Analyst 75, 397 (1950).

10. F. Schönberg, Fleisch- u. Milchhyg. 53, 215 (1943); Chem. Abstr. 38, 5604 (1944).
11. R. Elliot, Appl. Microbiol. 2, 1581 (1954).
12. J. A. Pearce and M. W. Thistle, Can. J. Research (D) 20, 276 (1942); M. W. Thistle, J. A. Pearce and N. E. Gebbons, Can. J. Research (D) 21, 1 (1943); 98 (1943); Chem. Abstr. 37, 490, 4147 (1943); J. Pearce, M. W. Thistle and M. Reid, Can. J. Research 21 (D), 341 (1943); Chem. Abstr. 38, 1574 (1944). Дана пропись проведения анализа.
13. J. Dutton, Ind. Eng. Chem. 37, 1119, 1121, 1123 (1945). О порче явчного порошка при хранении судят, между прочим, и по флуоресценции; обсуждается химическая реакция, обуславливающая изменение цвета и флуоресценции извлечений из порошка.
14. J. A. Pearce, Can. J. Research 22 (F), 87 (1944); Chem. Abstr. 38, 5313 (1944).
15. R. Koller, Fleisch- u. Milchhyg. 53, 185 (1943); Chem. Abstr. 38, 5994 (1944).
16. Д. В. Крислов, Гигиена и санитария, № 4, 52 (1950).
17. Г. Д. Лесков, Вопросы питания 9, № 4, 28 (1940). Люминесценция бактерий и грибов.
18. М. А. Литвинов, В. Н. Гиренко, М. И. Голланд, Н. Н. Барковская, Труды Ботан. ин-та АН СССР, сер. 2, вып. 8, 45 (1953).
19. Г. Д. Лесков, Гигиена и санитария, № 4, 49 (1952).
20. П. Д. Румянцев, Н. А. Лосев, С. И. Теумин, Клони-черепашки, Заготиздат, М., 1938.
21. К. В. Каменский, Т. А. Орехова, Тр. по прикладной бот., генетике и селекции, сер. IV, № 21 (1936). Сортотой лабораторный контроль.
22. Proceedings of the Internat. Seed Testing Association 18, № 1 (1953). Международные правила испытания семян.
23. Н. Н. Schmidt, Ber. dtsh. bot. Ges. 66, № 10, 420 (1954).
24. А. В. Карякин, Д. Н. Лазарев и Г. А. Барнинова, ДАН СССР 106, № 4 (1956); З. Е. Каневская, М. А. Овсянникова, Селекция и семеноводство, № 1 (1956).
25. F. Eberhardt, Naturwiss. 41, 299 (1954).
26. J. Kugler, Naturwiss. 39, 213 (1952).
27. Н. А. Наумова, Защита растений от вредителей и болезней, № 2 (1957). Применение ультрафиолетовых лучей для диагностики заболеваний семян; Н. А. Наумова, Биофизика, т. II, в. 3 (1957). Применение ультрафиолетовых лучей для диагностики семян сельскохозяйственных культур на внутреннюю грибную инфекцию.
28. К. А. Умаров, Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата сельскохозяйственных наук. Ташкентский сельскохозяйственный институт, 1954.
29. Э. М. Диканская, Микробиология 22, 525 (1953).
30. С. И. Боголюбский, Труды Пушкинской НИ лаборатории разведения с/х животных № 8, стр. 187 (1958). Флуоресценция яиц как признак при отборе.
31. W. Schumacher, Planta 37, № 5, 626 (1950).
32. Caldwell, New Phytologist 52, № 3, 312 (1953).
33. E. G. Hanssen, E. Dodt, Naturwiss. 42, 76 (1955).
34. E. G. Hanssen, Naturwiss. 41, 529 (1954).
35. S. P. Strugger, A. T. Krebs, Z. S. Gierlach, Amer. J. Roentgenol. and Radium Therapy 70, 365 (1953).
36. Y. T. Chan, Nature 170, № 4321, 328 (1952).
37. С. А. Владыченский, Вестник Моск. ун-та, № 10, 161 (1949). Опыт применения люминесцентного анализа в почвоведении.
38. М. А. Константинова-Шлезингер, Люминесцентный анализ стр. 215, М.—Л., 1948.

Дополнительная литература

1. В. Я. Лобанов, Н. И. Козелкова, Селекция и семеноводство, № 1, 56, 64 (1958). Новые методы определения жизнеспособности семян.
2. Н. Н. Schmidt, Luchter 26, № 3, 83 (1956). Изучение явлений флуоресценции у проростков *Lolium* spp. в ультрафиолетовом свете. III. Сравнительные исследования в лаборатории и в поле.
3. С. А. Thogold, Nature 174, 409 (1954). Использование веществ, флуоресцирующих в ультрафиолетовых лучах, для наблюдений за распространением спорангиев *Phytophthora palmivora*.

4. E. J. Wood, Ferguson, J. Conseil perman. internat. explorat. mer. 21, № 1, 6 (1955). Флуоресцентная микроскопия в морской микробиологии.
5. F. Münchberg, Mikroskopie 6, № 5—6, 188 (1951). Определение содержания лейкоцитов и бактерий в молоке при помощи люминесцентного микроскопа в синем свете.
6. Grafe Willy, Planta med. 4, № 2, 46 (1956). Изучение явлений флуоресценции в торговле семенами лекарственных и пряных растений.
7. H. C. Vackgaard, Compt. rend. Assoc. internat. essais semences 20, № 1, 89 (1955). Изучение содержания флуоресцирующих семян в датских сортах многолетнего райграса.
8. P. O. V. Montgomery, W. A. Bonner, F. F. Roberts, Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med. 93, № 3, 409 (1956). Микроскопия в ультрафиолетовых лучах с помощью телевизионной трубки с бегущим лучом. Прижизненное изучение клеток.
9. J. H. Reftkins, S. Aronoff, Arch. Biochem. and Biophys. 64, № 2, 506 (1956). Флуоресцирующие соединения в растениях, страдающих от недостатка бора.
10. L. N. Staniland, J. Agricult. Engineering Research 4, № 2, 110 (1959); 5, № 1, 42 (1960). Использование люминесцентных красителей для оценки качества распыла ядохимикатов.
11. В. В. Грузинский, Г. И. Моргайлик, А. В. Ермолович, Методы люминесцентного анализа, Материалы VIII совещания по люминесценции, Изд. АН БССР, Минск, 1960, стр. 143. Определение всхожести семян некоторых древесных пород люминесцентным методом.
12. С. В. Конев, И. И. Козуниин, [11], стр. 137. Новый флуоресцентный метод определения белка в молоке.
13. С. В. Горюнова, М. В. Насонова, Микробиология 27, вып. 5, 581 (1958). Влияние люминесцентных ламп с различными люминофорами на рост и развитие одноклеточной зеленой водоросли *Quadrigauda*.
14. С. В. Горюнова, Ю. Г. Кабанова, Изв. АН СССР, сер. биол. № 4, 433 (1958). Особенности автолитического распада клеток у некоторых перидиней.
15. С. В. Горюнова, Тр. Межведомств. совещания по океанол., изуч. дальневост. морей и сев. части Тихого океана, 1957. Некоторые закономерности развития и распада планктонных форм водорослей в дальневосточных морях.
16. См. дополнительный список литературы к гл. XVIII, ссылки №№ 4, 17—21.

ГЛАВА XIV

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В ТЕХНИКЕ

А. ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В МЕТАЛЛУРГИИ И МАШИНОСТРОЕНИИ

Начнем с рассмотрения применений люминесцентного анализа в машиностроении и металлургии.

Поскольку металлы не флуоресцируют, ясно, что в отношении их прием I, т. е. наблюдение собственной флуоресценции объектов, не может быть использован. Исключение составляет, пожалуй, выявление под люминесцентным микроскопом некоторых интерметаллических соединений в сплавах. По этому поводу Гайтингер [1] пишет: «Лиснер [2] в Fe—Cr—C-сплавах обнаруживает двойное свечение: смешанные кристаллы Cr_7C_3 флуоресцируют зеленым светом, а Cr_4C —желто-зеленым».

Прием I находит применение в отношении подсобных формовочных материалов; стремятся заменить кропотливый метод химического анализа экспрессным сортовым люминесцентным анализом и пытаются по характеру флуоресценции оценивать степень пригодности материалов, предназначенных для изготовления форм для отлива металла; равным образом, по флуоресценции оценивают пригодность применяемых масел, смазок и т. д. [3, 4].

В главе XII рассмотрены многочисленные флуоресцентные реакции для обнаружения и количественного определения катионов различных металлов. Ясно, что эти реакции пригодны для определения металлов, содержащихся в сплавах в виде следов; по существу — это реакции химические, и нет надобности останавливаться на них вторично.

В рассматриваемой области техники широкое применение находит прием V — покраска флуоресцентным составом.

Этим путем обнаруживают сквозные дефекты в металлических деталях. Простым и, по-видимому, существенно полезным в заводской практике оказался, например, метод, разработанный Красновой [3] для обнаружения сквозных трещин в металлических полых цилиндрах: деталь с одной стороны, изнутри, смачивают люминесцентным маслом; масло просачивается через щели и на наружной стороне цилиндра под ультрафиолетовыми лучами ясно вырисовывается блестящий след сквозной щели.

Из аннотации работы Картлина [5] мы узнаем о применении аналогичного метода для обнаружения повреждений в кораблях.

1. Люминесцентная дефектоскопия поверхностных дефектов

а) *Методы, описанные в зарубежной литературе.* С 1942 г. в зарубежной периодике начали появляться сообщения о применении люминесцентного метода для разрешения задачи, несравненно более трудной, а именно: для обнаружения волосных несквозных трещин в металлических

и иных изделиях. Эти дефекты настолько малы, что они неуловимы глазом. Для их обнаружения пользовались методом контроля магнитной суспензией: на намагниченный металл наносят суспензию крокуса в масле; крокус отлагается вдоль трещин там, где обрываются магнитные силовые линии. Этот метод неприменим, конечно, к цветным металлам, и, кроме того, намагничивание металла в некоторых случаях связано с трудностями. Другой используемый метод — рентгеновский — дорог и, кроме

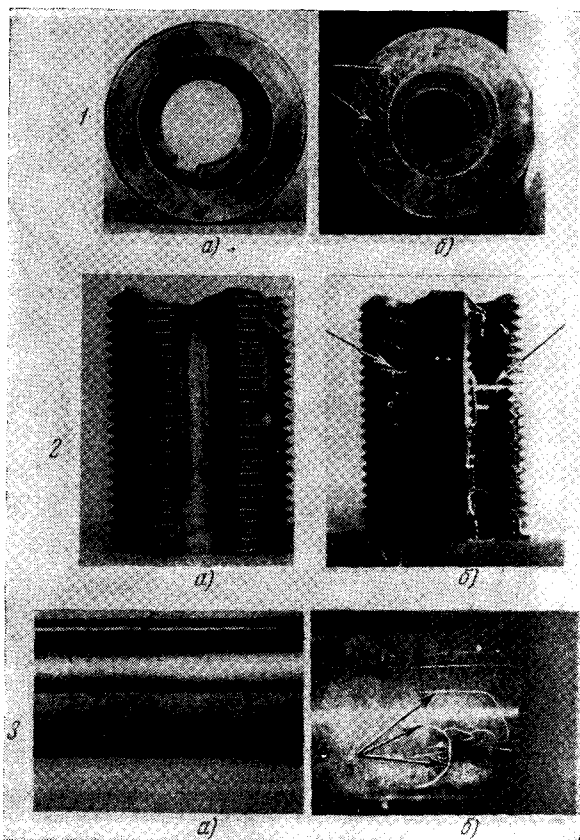


Рис. 59. Стальные изделия при обычном освещении (а) и при освещении ультрафиолетовым светом (б);

1 — муфта, 2 — метчик, 3 — вал.

того, пригоден только для обнаружения внутренних дефектов (как и ультразвуковая дефектоскопия и как метод облучения гамма-лучами).

В первых статьях по люминесцентной дефектоскопии, опубликованных в иностранной периодике, описывались два метода. Один из них представляет измененный метод магнитной суспензии и отличается только тем, что применяют флуоресцентные магнитные суспензии; благодаря этому при последующем просмотре детали в ультрафиолетовом свете легче обнаруживать дефекты, поскольку они вырисовываются с большой резкостью и отчетливостью.

Значительно больший интерес представляет второй метод: контролируемую очищенную с поверхности деталь помещают в ванну с подогретым флуоресцентным раствором. Последний проникает в поверхностные дефекты — волосные щели; затем деталь вынимают из ванны, смывают флуорес-

центное масло и просматривают в ультрафиолетовом свете: на темном фоне ярко вырисовываются все дефекты, т. е. те места, в которых флуоресцентное масло осталось (рис. 59, 60). Этот метод, столь простой в описании, представил трудности при его применении; в частности, громоздким оказывается процесс смывания люминесцентного вещества с поверхности.

В 1942 г. в Англии такой метод был описан под названием «*glo-crack*» [6]: испытываемую деталь погружают на некоторое время в раствор, например антрацена в четыреххлористом углероде, нагретый до 70—75° С, и после этого органическим растворителем смывают флуоресцентное вещество с поверхности детали.

Этот прием нашел дальнейшее развитие в методе, известном под названием «Нугло» [7]: деталь выдерживают сначала в нагретом флуоресцентном растворе, а затем в течение полминуты в парах растворителя, который смывает флуоресцентное вещество.

Остроумный вариант этого метода описан Бреннаном [8], использовавшим свойства некоторых веществ тушить флуоресценцию, а некоторых других — парализовать их тушащее действие. Деталь после ее погружения в ванну, содержащую флуоресцентный раствор, подвергают во вто-

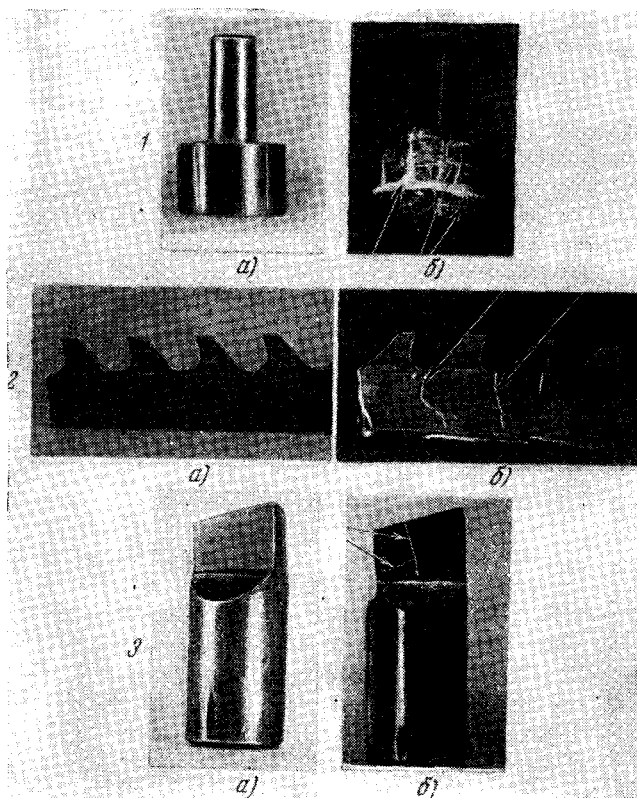


Рис. 60. Стальной калибр (1), протяжка (2) и резец из твердого сплава (3) при обычном освещении (а) и при освещении ультрафиолетовым светом (б).

рой ванне кратковременному воздействию тушителя. В ультрафиолетовом свете ярко обрисовываются дефекты, так как в них тушитель не успевает проникнуть, и потому флуоресцентное вещество в трещинах не подвергается действию тушителя. Для использования этого метода в производственных условиях Бреннан вносит дальнейшее усовершенствование: две ванны он заменяет одним баком, в котором к люминесцентному веществу добавлен тушитель флуоресценции и, кроме того, парализатор, уничтожающий действие тушителя. После погружения детали в этот бак ее вынимают и держат некоторое время над тем же баком в парах растворителя; пары удаляют парализатор с поверхности детали, вследствие чего начинает сказываться действие тушителя: поверхность детали перестает флуорес-

цировать, и на темном фоне ясно вырисовываются дефекты, поскольку парализатор из них не удален и, следовательно, действие тушителя не проявляется.

Названия применявшихся флуоресцентного углеводорода и тушителя не указаны. По-видимому, этот метод связан со слишком большими трудностями при его использовании, по крайней мере, судя по литературным данным, он не нашел применения в заводской практике.

В другом варианте метода «Huglo» к флуоресцентному раствору добавляют поверхностно-активные вещества, которые способствуют хорошему проникновению раствора в скрытые поверхностные дефекты даже при комнатной температуре. Удаление слоя люминесцентного раствора с поверхности детали производится обычно струей воды, которая его эмульгирует. Аналогичная методика известна под названием «Metrolux» [9]; в ней для выявления поверхностных дефектов в малогабаритных деталях применен специальный ультрафиолетовый осветитель.

Дальнейшее усовершенствование люминесцентной дефектоскопии достигнуто в Англии подбором веществ, по-разному флуоресцирующих в растворенном состоянии (в дефектах) и на сухой поверхности. Так, на различии свечения в твердом состоянии и в растворе 3,6-диоксифталимида основан бахроматический метод [10]. Деталь погружают в 1%-ный раствор этого флуорохрома в петролейном эфире; после улетучивания растворителя поверхностные дефекты — трещины и поры — люминесцируют голубым светом, а вся поверхность — желтым.

В случае патентованных «чернил» glo-mog [11] дефекты на поверхности детали, после ее погружения в раствор этих «чернил» и последующего высушивания, обнаруживаются по блестящей зеленой флуоресценции раствора, выступившего из дефектов; в случае мелких дефектов следует удалить слабо светящийся фон кратковременным погружением детали в раствор четыреххлористого углерода, или же промывая ее водой.

В Америке под названием «Zygo» [12] используют метод дефектоскопии, аналогичный описанному *): применяемый люминесцентный раствор (ZL-1A) представляет флуоресцирующую зеленым светом хорошо эмульгируемую водой жидкость, по-видимому, минеральное масло в керосине. Флуоресценция этого раствора резко отличается от флуоресценции обычных масел, которые могут оказаться на деталях.

После нанесения флуоресцентной жидкости деталь выдерживается на воздухе от 5 до 15 мин., а иногда до часа, в зависимости от размеров поверхностных дефектов. Указывается, что чувствительность метода зависит главным образом от времени выдержки в растворе, и чем больше это время, тем меньшей глубины дефекты могут быть выявлены. Флуоресцентную жидкость с поверхности детали смывают струей воды и затем сушат теплым воздухом. Для удаления флуоресцентной жидкости не рекомендуется применять органические растворители.

Для лучшего выявления дефектов применяют «припудривание»; на поверхность детали наносят «проявитель», например порошок окиси магния; флуоресцентная жидкость вытягивается нанесенным проявителем из дефектов и, поскольку свечение в адсорбированном состоянии ярче, дефекты выявляются отчетливее.

Метод «Zygo» пригоден для контроля и литых изделий. Люминесцентная жидкость удаляется с поверхности вместе с остатками формовочного

*) В США [13] применяется и метод, аналогичный «Huglo».

материала; большую же часть последнего удаляют еще до нанесения флуоресцентного раствора.

Для определения микродефектов на турбинных лопатках чувствительность метода «Zygló» повысили применением последующей эмульсификации [14]: в течение более двух часов поочередно обрабатывали деталь двумя жидкостями — флуоресцентной (ZL-2) и эмульсионной (ZE-1). Смывание, сушка и припудривание порошком-проявителем (ZP-2 и ZP-4) производились так же, как и раньше.

В новом методе большую роль играет очистка поверхности детали перед контролем, а также интенсивность ультрафиолетового света [15]. Поэтому стали применяться ртутнокварцевые лампы сверхвысокого давления, дающие большую интенсивность ультрафиолетового излучения [16]. Установлено, что для надежного выявления шлифовочных и других мелких трещин необходимо 90 условных люксов, в то время как для закалочных, усадочных и усталостных — от 70 до 50 [16]. Разработано специальное оборудование для полуавтоматического контроля турбинных лопаток [14].

Для вытягивания из трещин флуоресцентного раствора применяют, помимо порошкообразных адсорбентов, и другой проявитель — водную коллоидальную суспензию. В этот проявитель погружают деталь или разбрызгивают его по поверхности; делают это до операций сушки, но после смывания с поверхности флуоресцентной жидкости. (Вредны пыль, масло, лаки.)

После испытания остающуюся суспензию смывают водой.

Флуоресцентную жидкость «Zygló» можно использовать и для определения сквозных дефектов (ср. стр. 241) в металле толщиной не больше 6—7 мм; при большей толщине контроль не всегда дает удовлетворительные результаты.

Методы, аналогичные «Zygló», используются и в других государствах.

В Германии употреблялась люминесцентная жидкость на основе петролейного эфира с компрессорным маслом. В качестве флуоресцентного вещества применялся люмоген голубой [17, 18]. Методика испытания состоит в том, что по истечении некоторого времени после нанесения флуоресцентного раствора его удаляют с помощью пескоструйного аппарата с последующим припудриванием порошком-проявителем.

Во Франции рекомендовались для приготовления флуоресцентного раствора следующие жидкости: смесь бутилового лактата с толуолом или смесь тетралина и ксилола с пропиловым спиртом. В качестве флуоресцентных веществ применялись «органол красный» и основание родамина. В настоящее время применяется главным образом керосиново-масляная смесь с флуоресцентным красителем диметилкоэроксиолом, как с добавкой поверхностно-активных веществ до 5%, так и без них [19]. В качестве проявителя употребляется пудра сухого силикагеля или же коллоидальный силикагель в метаноле, который разбрызгивается пульверизатором.

Наряду с описанными находят применение и методы люминесцентно-магнитной дефектоскопии. Вначале для этой цели использовали крокус, поверхность которого была покрыта ярко флуоресцирующим минеральным маслом [7], а также люминесцентную магнитную пасту [20]; в пятидесятых годах были запатентованы флуоресцентные магнитные «чернила» «Lumog» [21], представляющие суспензию флуоресцентного магнитного вещества в специальной жидкой среде. Чернила «Lumog K» изготовлены

на основе керосина, «Lumog S» — на основе неорганического растворителя, благодаря чему они могут употребляться для определения трещин на стальных и чугунных деталях с резиновыми прокладками, не вызывая их набухания. В США люминесцентно-магнитный метод известен под названием «Magnaglo» [12] и тоже находит широкое применение в машиностроительной промышленности.

Характерно, что большинство современных лабораторных и цеховых магнитных дефектоскопов снабжены ультрафиолетовыми осветителями. Выявление поверхностных дефектов производится специальным контролером, а при автоматическом контроле — фотоэлектрическим устройством; этим достигается большая надежность контроля, не говоря уже о том, что контролер в силах эффективно осматривать детали под ультрафиолетовым светом не более чем в течение 30 мин., после чего во избежание ошибок необходимы 5—10-минутные перерывы.

Был предложен так называемый сканирующий фотоэлектрический метод, позволяющий автоматически производить контроль как при магнитно-люминесцентном, так и при люминесцентном методах [22].

Область применения люминесцентной дефектоскопии весьма широка. Люминесцентную дефектоскопию применяют для контроля поковок [23], начали внедрять в литейном производстве для поточного контроля отливок из легких сплавов и в первую очередь алюминиевого литья с целью определения усадочных трещин, газовых трещин и пористости, а также трещин, образовавшихся при деформации [12, 24, 25, 26].

В авиационной промышленности методом люминесцентной дефектоскопии производится осмотр каждой детали мотора и других ответственных частей, изготовленных из легких металлов [25, 27, 28, 29]. Этот контроль еще более необходим для частей ракетных двигателей, изготовленных как из немагнитных легких материалов, так и из немагнитных высокотемпературных сплавов, поскольку даже мельчайшие дефекты в частях ракетных двигателей могут вызвать их поломку во время эксплуатации [30]. Аналогичный контроль производится для частей паровых турбин, трубопроводов, котлов и в первую очередь для турбинных лопаток [14, 31, 32], а также для инструмента, главным образом, с пластинками из твердых сплавов [32].

Эффективность люминесцентного контроля в промышленности автотракторных деталей [33, 34] иллюстрируем следующим примером: выборочный контроль 7721 детали дизельных моторов показал наличие трещин в 337 деталях. Из этих деталей 304 были полностью забракованы, а 33 были отремонтированы.

б) *Методы, применяемые в СССР.* В СССР люминесцентную дефектоскопию начали применять с 1945 г. В одной группе методов [35, 35а] в качестве люминесцентного раствора применен керосин в смеси с минеральным маслом, флуоресцирующим голубым светом, например, с авиамаслом, с автолом или с эмульсолом нефтяным. Отдельные методы этой группы различаются как рекомендуемыми приемами нанесения люминесцентной жидкости (при комнатной температуре [35], при 80—90° С [35а]), так и приемами удаления раствора с поверхности — смыванием (водой, бензином, 5%-ным содовым раствором, нагретым до 35° С) или стиранием ветошью. Во всех случаях после сушки горячим воздухом или опилками контролируемую деталь присыпают порошком, например окисью магния, тальком, и этим повышают чувствительность метода.

В другой группе методов применяется специальный краситель или минеральное масло, имеющие желто-зеленую флуоресценцию, соответ-

ствующую максимальной чувствительности глаза и контрастирующую с фиолетовым фоном детали, а также с голубым свечением минерального масла [36—39], которое попадает иногда на поверхность. Предложен в качестве люминесцентной жидкости раствор «флуороля зелено-золотистого» в очищенной нефти (предварительно обработанной серной кислотой) с добавкой поверхностно-активных веществ — триэтаноламина с олеиновой кислотой [36].

Другие авторы рекомендуют в качестве флуорохрома «дефектоль зелено-золотистый» или «нориол» [37—39], растворенные в смеси керосина с нефлуоресцирующим маслом (вазелиновым, легким трансформаторным, велоситом и т. д.); в некоторых работах применены поверхностно-активные вещества.

Промышленность предъявляет к методам дефектоскопии большие требования: они должны обладать большой чувствительностью и дешевизной, должны быть экспресс-методами и, наконец, должны быть применимы к объектам больших габаритов. По-видимому, к одновременному удовлетворению всех этих требований наиболее приближаются методы, описанные в работах [36—39]. Их преимущество перед остальными еще и в том, что они позволяют не только выявлять поверхностные дефекты и трещины, но и определять их глубину вплоть до 1 микрона. В случае микротрещин, в особенности шлифовочных трещин, это имеет большое значение; так, микротрещины глубиной порядка 0,001—0,005 мм еще допустимы в неотчетливых деталях, для ответственных же, в частности для твердopлавкого инструмента, они являются критерием брака.

Остановимся детальнее на методе, наиболее разработанном и чаще всего применяемом на заводах СССР [37, 38].

Люминесцентная жидкость имеет следующий состав [37, 38]: а) керосин 500 мл, б) бензин 250 мл, в) светлое минеральное масло (вазелиновое, трансформаторное, велосит и др.) 250 мл, г) флуоресцентный краситель «дефектоль зелено-золотистый» 0,25 г.

Краситель растворяют в бензине, затем доливают сначала керосин, а потом масло. Если часть красителя остается не растворенной, следует раствор профильтровать. Можно применять керосин, бензин и минеральное масло обычных торговых марок, но надо обращать внимание на то, чтобы они были чистыми и не содержали взвешенных примесей. При недостаточной чистоте исходных компонентов, в особенности минерального масла, цвет свечения жидкости под ультрафиолетовыми лучами становится голубым вместо желто-зеленого с голубым оттенком, и это снижает чувствительность метода, так как такое свечение слабее выделяется на фиолетовом фоне детали.

Вместо дефектоля зелено-золотистого можно применять люмоген водно-голубой, примерно в той же концентрации. Однако цвет люминесценции раствора этого красителя светло-голубой, не зеленый. Смыть люминесцентной жидкости с поверхностей контролируемых деталей способствуют вещества, эмульгирующие масло; поэтому к флуоресцентному раствору рекомендуется добавлять 0,2—0,3% поверхностно-активных веществ ОП-7 и ОП-10.

Предложен и другой состав флуоресцентной жидкости [38]:

а) керосин или лучше лигроин от 75 до 65%, б) нориол от 25 до 35%, в) поверхностно-активные вещества ОП-7 или ОП-10 0,5%. Нориол представляет собой концентрат углеводов с желто-зеленой люминесценцией.

Технология испытания. Для очистки поверхности от масла деталь погружают в бензиновую ванну на 1 час или, в случае крупногабаритных деталей, протирают поверхность бензином. При наличии

окалина проводится предварительная обработка поверхности с помощью пескоструйного аппарата, так как окалина тушит флуоресценцию применяемого красителя и мешает обнаружению дефектов. Окалина может также вызвать необоснованную браковку изделия, поскольку свечение флуоресцентного раствора, затекающего под окалину, легко приписать трещинам на поверхности детали. Если дефекты не имеют выхода на поверхность изделия, как это имеет место после полировки или травления кислотами или щелочами, то они не могут быть обнаружены описываемым методом. Поэтому рекомендуется производить люминесцентный контроль до обработки поверхности.

Люминесцентную жидкость наносят на поверхность кистью или же на короткое время погружают контролируемую деталь в раствор, а затем выдерживают ее на воздухе в течение 10—15 минут.

Раствор с поверхности детали смывают сильной струей воды за 5—10 секунд.

При использовании поверхностно-активных веществ ОП-7 и ОП-10 люминесцентный раствор удаляют проточной водой, а с грубых поверхностей (например, после литья) — дополнительно распылением малого количества воды сжатым воздухом при давлениях от 1,5 до 2,5 атмосфер. Для этой цели можно применять обычный краскораспылитель.

В ряде случаев можно просто стирать раствор ветошью, смоченной в бензине; выявление грубых поверхностных дефектов при этом не ухудшается, но микродефекты выявляются немного хуже. Применение растворителей противопоказано из-за возможности образования светящегося фона.

Для удаления капель воды деталь сушат в струе воздуха, подогретого до 50—60° С. (Нагревание способствует выходу раствора из трещин на поверхность детали и некоторому растеканию его по краям трещин, так как коэффициент расширения у масла в 20—25 раз больше, чем у металла.) После сушки поверхность посыпают слоем тонко измельченного сухого порошка силикагеля и выдерживают на воздухе. Время выдержки на воздухе зависит от характера и глубины трещин и колеблется от 1 до 30 минут. Излишек силикагеля удаляют стряхиванием или сдуванием; пропитанный же раствором силикагель слипается и остается на поверхности. Применяют силикагель (SiO₂) определенных марок в зависимости от глубины выявляемых трещин или пористости деталей. Силикагель МСМ (мелкозернистый силикагель мелкопористый) со степенью размельчения 270 меш (размер частичек менее 0,053 мм) применяют для выявления микротрещин типа шлифовочных и других микродефектов; для трещин типа закалочных, усадочных и эксплуатационных используется тот же силикагель, но с другой степенью размельченности (200 меш, размер частичек 0,074 мм), а при комбинированном определении различных по глубине поверхностных дефектов следует применять их смесь (1 : 1).

Силикагель КСМ (крупнозернистый силикагель мелкопористый) является наиболее эффективным для определения грубых поверхностных дефектов.

Порошок силикагеля перед употреблением необходимо просушивать при температуре 100—150° С.

В тех случаях, когда затруднительно применять сухой порошок силикагеля, следует применять коллоидальный силикагель, который равномерно распыляется по всей испытываемой поверхности. Методика приготовления коллоидального силикагеля разработана в институте Физической химии Академии наук УССР.

В производственных условиях при массовом выборочном контроле, и тем более в потоке, многие операции механизмируют.

В некоторых случаях требуется фиксировать (фотографировать) расположение выявленных поверхностных дефектов.

Ультрафиолетовый свет, возбуждающий люминесценцию, действует на фотографическую пленку сильнее фотографируемой видимой люминесценции, поэтому необходимо с помощью светофильтров (см. гл. VII, гл. VI, стр. 85) исключить возможность попадания ультрафиолетового света в объектив. Чтобы по снимку можно было ориентироваться в расположении дефектов на поверхности, надо, чтобы на фотографии были видны и контуры детали; для этого во время съемки кратковременно, на доли секунды, удаляют светофильтр, поглощающий ультрафиолетовый свет, и получают на негативе слабое изображение всей детали; на нем отчетливо выступают следы люминесцирующего силикагеля, которые получают при длительной выдержке.

Применяют и другой прием: фотографируют деталь на фоне слабо флуоресцирующего экрана, в качестве которого можно использовать белую бумагу.

Заслуживает внимания упрощенный метод документации данных по люминесцентной дефектоскопии при помощи бесцветных пленок [40]. Бесцветный лак наносится любым способом на поверхность детали, и после того, как он загустеет, довольно легко снять образовавшуюся пленку. Под ультрафиолетовыми лучами ярко светятся те места пленки, которые впитали флуоресцентный раствор, т. е. получается светящаяся копия обнаруженных поверхностных дефектов.

О п р е д е л е н и е г л у б и н ы т р е щ и н. При точном соблюдении вышеописанной методики люминесцентный метод позволяет определять глубину трещин по ширине флуоресцирующей полосы и по времени, протекшему с момента посыпания изделия силикагелем до появления заметного свечения (время выявления) [38]. Глубина трещин предельно определялась на двойном интерференционном микроскопе МИИ-1 системы акад. В. П. Линника, а ширина флуоресцирующих полос — на отсчетном микроскопе. Полученная закономерность дана на рис. 61, а также в таблице 24.

Для трещин глубиной меньше 0,015 мм данные таблицы 24 могут служить практическим руководством для определения глубины трещин по ширине флуоресцирующей полосы, а также и по времени, протекшему с момента посыпания изделия силикагелем до возникновения заметной флуоресценции.

По своей чувствительности описанный метод вполне удовлетворителен, и не следует усложнять люминесцентную дефектоскопию дополнительными операциями, как, например, применением вакуума для удаления воздуха из трещин [39]. Повышения чувствительности различных

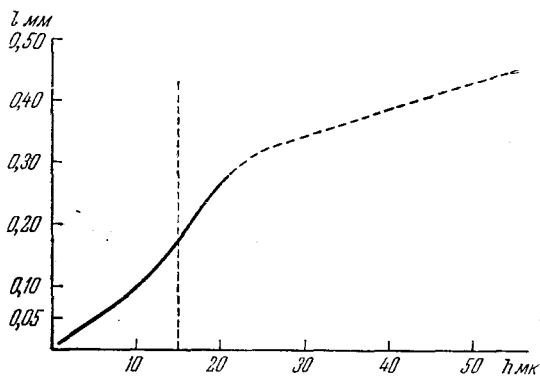


Рис. 61. Зависимость ширины флуоресцирующей полосы l от глубины трещины h .

Таблица 24

Время выявления свечения, мин.	Ширина флуоресцирующей полосы l , мм	Глубина трещин h , мм	Характер трещин
Менее 0,5	0,70—0,50	Более 0,100	Закалочные трещины
0,5—1	0,40—0,30	0,50—0,025	
1—2	0,30—0,20	0,025—0,015	
2—3	0,17—0,14	0,015—0,013	
3—4	0,14—0,10	0,013—0,010	
4—5	0,10—0,08	0,010—0,008	Шлифовочные трещины
6—8	0,08—0,06	0,008—0,006	
8—10	0,06—0,04	0,006—0,004	
10—12	0,04—0,03	0,004—0,003	
12—15	0,03—0,02	0,003—0,002	
15—20	0,02—0,01	0,002—0,001	
20—30	около 0,01	менее 0,001	

методик целесообразно добиваться подбором в качестве проявителя веществ, которые возможно сильнее адсорбируют применяемую люминесцентную жидкость, и повышением интенсивности возбуждающего ультрафиолетового света. Для надежного выявления трещин глубиной от 0,005 до 0,003 мм требуется интенсивность ультрафиолетового света до 700—800 черных люксов*), а для микротрещин порядка 0,002—0,001 мм необходима интенсивность до 1000—1200 черных люксов, т. е. та освещенность, которую на расстоянии 25 см без применения какой-либо оптики дает ртутно-кварцевая лампа сверхвысокого давления (ДРШ-250) в сочетании со стеклянным светофильтром УФС-4.

В некоторых случаях можно использовать люминесцентную дефектоскопию и для выявления и определения глубины внутренних дефектов, а именно таких, которые выходят на поверхность изломов и резов.

В последние годы были предложены отечественные магнитные люминесцентные водные суспензии для люминесцентно-магнитной дефектоскопии [41, 42].

Следует отметить, что люминесцентная дефектоскопия все еще не получила достаточно широкого распространения и не нашла всеобщего признания. Для более широкого внедрения этого метода дефектоскопии в нашу машиностроительную промышленность необходимо увеличить выпуск удобных и доступных ультрафиолетовых осветителей, оборудования и материалов, кроме того, следует провести стандартизацию люминесцентной жидкости и проявляющего порошка.

2. Люминесцентная дефектоскопия керамических изделий

Люминесцентную дефектоскопию применяют теперь для определения трещин в пористых материалах. Как видно из [43], метод «Zygio» пригоден в применении и к керамическим изделиям, но только к материалам не очень пористым, например к автосвечам, к ряду керамик, употребляе-

*) Черный люкс (чел) — это такая облученность ближней ультрафиолетовой радиацией, при которой стандартный экран (плотный сухой слой сернистого уранила калия $K_2UO_2(SO_4)_2 \cdot 2H_2O$) излучает с квадратного метра своей поверхности световой поток, равный одному люмену (см. Д. Н. Л а з а р е в, Ультрафиолетовая радиация и ее применение, 1950 г.).

мых в радиотехнике; при этом необходимо тщательно удалять флуоресцентную жидкость с поверхности. В случае пористых керамик (необожженной и обожженной глины, некоторых видов обожженной керамики, бетона, прессованных порошкообразных металлов и др.) употребляют люминесцентный метод контроля под названием «Partek». Этот метод основан на различной адсорбции жидкости пористой поверхностью и в местах, где имеются трещины. Применяют жидкость с взвешенными в ней частицами, размеры которых значительно больше, чем поры материала; во время поглощения жидкости частицы притягиваются к трещине и отфильтровываются, образуя большие скопления. В ультрафиолетовом свете частички ярко светятся, так как на них адсорбирован флуоресцентный краситель. Метод не пригоден для сильно пористых материалов (около 60 меш, размер отверстия 0,25 мм).

Метод «Partek» нашел широкое применение для контроля высоковольтных изоляторов, причем время контроля снизилось на 30% по сравнению с требовавшимся при ранее применявшихся методах испытания.

В СССР для выявления тонких трещин в огнеупорных изделиях применяют люминесцентные жидкости, предложенные для люминесцентной дефектоскопии металлов [37—39]. Трещины обнаруживаются по скорости исчезновения свечения при впитывании раствора, который был предварительно нанесен на испытываемую пористую поверхность [44].

3. Обнаружение течи

В работах, опубликованных в 1950 г. [45], описано интересное применение пятого приема, а именно для обнаружения течи в трубках конденсаторов. Конденсатор наполняется водой с паровой стороны до максимального уровня для обеспечения достаточного гидростатического давления. В воду предварительно вводят небольшое количество флуоресцентного раствора и трубки освещают фильтрованным ультрафиолетовым светом; сквозные дефекты обнаруживаются по свечению раствора, просачивающегося через дефекты. Автор утверждает, что указанный метод дает значительное сокращение времени, затрачиваемого на проверку состояния трубок конденсатора (30 мин. вместо 3—4 часов при исследовании трубок обычными способами); кроме того, этот метод позволяет обнаруживать и небольшие течи, не выявляемые обычными способами.

Б. ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В РЕЗИНОВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

В резиновой промышленности люминесцентный анализ начали применять с 1927 г. [46]. Первые работы были посвящены сортовому анализу ингредиентов, контролю сырых материалов, изучению процессов вулканизации, старения и т. п.

1. Некоторые сведения о резине

Основным сырьем для резиновой промышленности служат натуральный (НК) или синтетические каучуки (СК).

При производстве резиновых изделий применяются разнообразные вещества: вулканизирующие, ускорители и активаторы, красящие вещества, текстильные материалы, металлы и растворители.

Смесь каучука с различными химическими материалами называют резиновой смесью.

Различные комбинации химических материалов, добавляемых к каучуку, придают резине те или иные специфические свойства, например жесткость, пористость, водоупорность, масло-, бензо-, кислотоустойчивость и т. д. Таким образом, резиновые смеси, предназначенные для различных видов изделий, имеют разный состав.

Приготовление таких смесей проводится обычно на специальном оборудовании — вальцах или резиносмесителях. Завершающим процессом при получении резинового изделия является вулканизация — нагревание сырой резиновой смеси в присутствии вулканизирующих агентов. При вулканизации к каучуку присоединяется вулканизирующий агент (сера, перекиси и др.), в результате чего резина приобретает ряд ценных свойств: высокую эластичность, прочность, химическую стойкость и т. д. Процесс вулканизации — этот основной процесс резинового производства — очень длителен, поэтому изыскивались методы его ускорения, и в настоящее время путем введения ускорителей и активаторов продолжительность вулканизации удалось сократить до нескольких часов и даже до нескольких минут. Внедрение в резиновое производство противостарителей и ускорителей позволило увеличить срок службы готовых изделий в несколько раз.

Физико-механические свойства каучука можно сильно видоизменять как путем введения различных ингредиентов, так и при помощи вулканизации [47] (см. табл. 25).

Таблица 25

Влияние вулканизации и различных ингредиентов на механические свойства каучука

№ п/п	Состав смеси	Прочность при разрыве, кг/см ²	Удлинение, %
1	Невулканизированный смокед-шитс	12—20	до 1000
2	Вулканизированная смесь: Смокед-шитс 100 Сера 8	120—160	850—900
3	Незаполненная смесь: Смокед-шитс 100 Сера 2,5 Меркаптобензотриазол 0,8 Окись цинка 5,0 Стеариновая кислота 0,5 Фенил-β-нафтиламин 1,0	160—240	750—850
4	Смесь, как и предыдущая, с добавкой наполнителя и стеариновой кислоты: газовая сажа 45 стеариновая кислота 2,5	220—280	600—650

Свойства вулканизированной резины зависят:

1) от природы и относительных количеств содержащихся в ней основных компонентов (каучука, серы, ускорителей, усилителей, противоста-

рителей мягчителей и т. д.); 2) от степени и способа вулканизации; 3) от режимов процессов изготовления резиновых смесей.

Люминесцентный анализ (прием первый) применяют как для получения дополнительных характеристики перечисленных веществ, используемых в резиновой промышленности, так и в целях контроля процессов вулканизации и приготовления резиновых смесей.

2. Люминесценция компонентов резиновых смесей

В таблицах 26—29 приводим люминесцентные свойства различных компонентов резиновых смесей по данным работ, посвященных их «сортovому» люминесцентному анализу. В таблице 30 аналогичные сведения приведены для латексов и ингредиентов латексной смеси.

Таблица 26

№ п/п	Ускоритель	Цвет флуоресценции	Литература
1	Трифенилгуанидин	Грязно-серый	[48]
2	Дифенилгуанидин	Светло-пурпурный	[48], [49], [50]
3	Ди-о-толилгуанидин	Пурпурный	[48]
4	Фенил-о-толилгуанидин	Светло-пурпурный с синеватым оттенком	[48]
5	Дифенилгуанидин и 2,4-динитробензотиазолсульфид	Темный с красным оттенком	[48]
6	Тетраметилтиурамдисульфид (Tu-ads)	Густой пурпурный	[48], [49], [50]
7	2-меркаптобензотиазол (каптакс)	Красновато-коричневый	[48], [49], [50]
8	Этилиденанилин	Светло-коричневый	[48]
9	Тиокарбанилид	Пурпурный	[48]
10	Цинкдиметилдитиокарбамат (цимат)	Грязно-пурпурный	[48]
11	Пиридин-пентаметилдитиокарбамат (du Pont № 552)	Темный	[48]
12	Сульфидметиленипиперидин +5% олеиновой кислоты (PipsoI-x)	Темный	[48]
13	Дибензотиазолдисульфид (альтакс)	Темно-оранжевый	[48], [50]

Таблица 27

№ п/п	Антиоксидант	Цвет при дневном освещении	Цвет флуоресценции	Литература
1	Ацетальдегиданилин	Каштановый	Бледно-коричневый с зеленым оттенком	[48]
2	N',N'-дифенилендиамин (стабилит)	Соломенный	Красно-фиолетовый	[48]
3	Гидрохинон	Белый	Сине-фиолетовый	[48]
4	Конденсат анилина с кетоном (Flectol)	Темно-коричневый	Зеленовато-желтый	[48]
5	Альдоль-α-нафтиламин (agerite-Ressin)	Красновато-коричневый	Бледно-коричневый	[48]
6	Фенил-α-нафтиламин	Пурпурно-розовый	Светло-синий	[48]
7	Фенил-β-нафтиламин (неозон «Д»)	Сероватый	Ярко-сиреневый	[48], [49], [50]

Таблица 28

№ п/п	Мягчитель или пластификатор	Цвет флуоресценции	Литература
1	Сосновая смола	Темно-зеленый с желтым оттенком	[48]
2	Очищенный асфальт	Темно-желтый, коричневый	[48]
3	Стеариновая кислота	Светло-фиолетовый с синим оттенком	[48]
4	Вазелиновое масло	Светло-сиреневый	[50]
5	Дибутилфталат	Бледно-голубой	[50]
6	Канифольное масло	Светло-синий	[48]
7	Канифоль	Светло-синий	[48]
8	Каменноугольная смола	Серо-зеленый	[50]
9	Мазут	Светло-коричневый	[50]
10	Масло трансформаторное	Светло-голубой	[49]
11	Минеральный каучук	Пурпурный (кажется совсем темным)	[48]
12	Минеральное масло	Светло-синий	[48]
13	Олеиновая кислота	Светло-голубой	[50]
14	Озокерит	Светло-коричневый	[50]
15	Парафин	Светло-голубой	[49], [50]
16	Петролатум	Серовато-голубой	[50]
17	Рубракс	Коричневый	[50]

Таблица 29

№ п/п	Активаторы, усилители и наполнители	Цвет при дневном освещении	Цвет флуоресценции	Литература
1	Актинап	Белый	Пурпурный	[49], [50]
2	Белая сажа	»	Темно-сиреневый	[50]
3	Каолин	»	Пурпурный	[50]
4	Литопон	»	Светло-оранжевый	[50]
5	Мел	»	Серый	[49], [50]
6	Окись магния	»	Фиолетовый	[49], [50]
7	Окись цинка	»	Лимонно-желтый	[49], [50]
8	Тальк	»	Фиолетовый	[49], [50]
9	Стеарат цинка	»	Грязно-голубой	[50]

Таблица 30

№ п/п	Латексы и ингредиенты латексной смеси	Цвет при дневном освещении	Цвет флуоресценции	Литература
1	Обычный латекс	Белый	Светло-пурпурный	[51]
2	Ревертекс	Кремовый	Ярко-белый	[51]
3	Вультекс	»	Зеленовато-белый	[51]
4	Коллоидная сера	Белый	Светло-пурпурный	[51]
5	Казеин	Кремовый	Ярко-желтый	[51]
6	Декстрин	Светло-коричневый	Ярко-коричневый	[51]
7	Ализариновое масло	То же	Ярко-белый	[51]
8	Триэтанолламин	Ярко-белый	Тускло-зеленый	[51]

Бухарев [52] по флуоресценции контролировал активность катализатора, применяемого в производстве СК. Активированный катализатор флуоресцировал равномерно фиолетовым светом, обработанный не люминесцировал.

Дитмар и Дитч [53] выясняли возможность определять ускорители вулканизации на основании их флуоресценции. Они исследовали эти вещества отдельно и в смеси со светлым крепом гевей в разных соотношениях. Оказалось, что отдельные ускорители: А-Байер, Тк-Байер, 470-Байер и ускоритель ВВ дают как сами по себе, так и в смеси с каучуком весьма характерную флуоресценцию, благодаря чему возможна вполне надежная их идентификация.

Рацбаум и Холодковский в 1932 г. на заводе «Красный Треугольник» провели работу по созданию стандартной шкалы флуоресценции ингредиентов. В их отчете приведены данные, показывающие, что по цвету флуоресценции можно оценивать пригодность некоторых ингредиентов и различать образцы хорошего и плохого качества. Так, например, окись цинка хорошего качества имеет люминесценцию лимонно-желтого цвета, а плохого — темно-серого.

При использовании этих данных следует помнить, что и в этом случае, как и всегда при «сортовом» люминесцентном анализе (ср. стр. 59, 66), результаты анализа не могут иметь абсолютного значения: они верны только для данного сырья, для данных условий и требуется осмотрительность при их применении. Для иллюстрации сказанного подробнее остановимся на окиси цинка; ее флуоресцентным свойствам уделялось много внимания: ведь окись цинка широко используют в резинах в качестве красителя, усилителя, ускорителя и активатора.

Нагле [54] указал на существование 8 сортов окиси цинка, обладающих различным цветом флуоресценции от светло-желтого до темно-серого. По Бейтель и др. [55], цвет флуоресценции окиси цинка зависит от способа приготовления (см. табл. 31).

Таблица 31

№ п/п	Сорта окиси цинка	Цвет флуоресценции
1	Kadox	Пурпурный
2	XX-Red-4	Светло-коричневый с желтым оттенком
3	V.S.P.	Светло-коричневый с пурпурным оттенком
4	V.S.P. другой фирмы	Серовато-зеленый
5	Получена по французскому способу	Коричневый с пурпурным оттенком
6	Получена в электрической печи	Коричневато-пурпурный
7	Получена по американскому способу	Коричневато-желтый
8	Азо для живописи	Светло-желтый
9	Химически чистая	Темно-серый
10	Отечественная, применяемая в резиновой промышленности	Лимонно-желтый

Различие в цветах флуоресценции Кирхгоф [56, 57] объясняет присутствием в окиси цинка различных загрязнений и считает, что чем окись цинка чище, тем ярче ее люминесценция; в подтверждение приводятся данные для цинковых белил, из которых посторонние примеси были удалены сильным прокаливанием. Хаузер [58] при помощи люминесцент-

ного микроскопа показал, что окись цинка не однородна и содержит частицы, обладающие флуоресценцией различных цветов — от коричневого до пурпурного. По Моррис [48] цвет флуоресценции различных образцов окиси цинка находится в зависимости не только от способа ее получения, но и от степени дисперсности (см. табл. 32).

Вопрос о природе флуоресценции окиси цинка и теперь еще нельзя считать выясненным *).

Данные, получаемые непосредственным наблюдением анализируемого объекта, дополняют простейшими приемами извлечения или про-

Таблица 32

№ п/п	Величина частиц ZnO в микронах	Цвет излучения
1	0,182	Грязно-серый с коричневым оттенком
2	0,191	Грязно-серый
3	0,205	Грязно-серый
4	0,217	Грязно-серый с зеленым оттенком
5	0,290	Светло-коричневый
6	0,334	Зеленовато-серый
7	0,403	Серовато-зеленый
8	0,800	Зеленовато-желтый
9	около 1,5	Желтый

стыми реакциями. Так, легко обнаружить присутствие антиоксиданта фенил-β-нафтиламина (неозон «Д») даже в смесях, сильно наполненных сажей [50]. Если на готовое изделие (например, галошу) нанести каплю спирта, то на черной лакированной поверхности под ультрафиолетовыми лучами обнаруживается яркое свечение, присущее раствору извлеченного ингредиента и ослабевающее по мере улетучивания растворителя.

Известно, что углеродные сажи не обладают флуоресценцией.

Однако спиртовые и хлороформные экстракты сажи флуоресцируют; по интенсивности и цвету их флуоресценции можно судить о некоторых типах саж [50]. Экстракты термической и ламповой сажи флуоресцируют ярко-голубым и ярко-синим светом, в то время как экстракты из газовой и белой сажи не флуоресцируют, а из печной сажи дают только опалесценцию.

Берман и Рачкулик [49] приводят реакции для окиси магния, ламповой, газовой и печной сажи. По их данным, при действии 25%-ного водного раствора едкого натра на окись магния, освещенную ультрафиолетовым светом, сразу вспыхивает желтовато-зеленое свечение, не ослабевающее в течение нескольких часов. Однако нам этой реакции воспроизвести не удалось, и возникает подозрение, что примененные авторами реактивы были загрязнены флуоресцирующими веществами.

Если каплю бензола нанести на ламповую сажу, то в ультрафиолетовом свете появляется белесое пятно. У газовой и печной сажи подобного эффекта не наблюдается.

В отдельных случаях оказывается полезным просмотр люминесценции резиновых смесей и каучуков. Установлено, что резиновые смеси, различающиеся по составу, обладают различным цветом флуоресценции.

Большой интерес представляет возможность легко наблюдать в резиновых сырых смесях непромеси флуоресцирующих ингредиентов. Степень различия люминесценции каучуков читатель может оценить по данным, приведенным в таблице 33.

*) Большое влияние на люминесцентные свойства оказывают, по-видимому, вакантные узлы и другие дефекты кристаллической решетки.

Т а б л и ц а 33

№ п/п	Каучуки	Цвет при дневном освещении	Цвет флуоресценции	Литература
1	Светлый креп	Белый	Желтовато-голубоватый	[50]
2	СКБ-35р *)	Кремовый	Фиолетовый	[50]
3	СКБ пищевой	Кремовый	Ярко-голубой с беловатым оттенком	[50]
4	СКС-30 **)	Светло-серый	Фиолетовый	[49], [50]
5	СКС-30АМ	Темно-серый	Голубой	[49], [50]
6	СКС не термопластицированный	»	Светло-голубой	[49]
7	СКС термопластицированный нормально	»	Синий	[49]
8	СКС термопластицированный в течение длительного времени	»	Коричневый	[49]
9	СКН-40 ***)	Светло-бежевый	Сине-фиолетовый	[49], [50]
10	СКТ ****)	»	Синеватый	[49]

*) СКБ — натрий-бутадиеновый каучук.

**) СКС — дивинил-стирольный каучук.

***) СКН — дивинил-нитрильный каучук.

****) СКТ — кремнеорганический каучук.

3. Примеры применения сортового люминесцентного анализа

Полезность «сортового» люминесцентного анализа в применении к каучукам иллюстрируем несколькими примерами.

Каучуки СКБ пищевой и непивцевой резко отличаются по свечению, по внешнему же виду они совершенно одинаковы, и поэтому в складских помещениях их легко перепутать. Люминесцентный анализ позволяет быстро их рассортировать.

При неправильном складском хранении (близком соприкосновении) возможны случаи загрязнения пищевого каучука неозоном «Д», который может попасть в него в результате диффузии из непивцевого СКБ. Такое загрязнение легко обнаружить, если просматривать каучуки под ультрафиолетовыми лучами. Очень показателен следующий случай. Для укупорки флаконов с раствором инсулина*) на Московский завод эндокринных препаратов поступили пробки двух рецептов. Пробки были перепутаны, вследствие чего значительная часть флаконов с раствором инсулина оказалась укупоренной неподходящими пробками, а это неминуемо должно было привести к порче инсулина в них. Стоял вопрос об изъятии всей партии флаконов, укупоренных этими пробками. Благодаря люминесцентному анализу оказалось возможным в кратчайший срок и без особой трудности разбраковать всю продукцию, так как пробки одной рецептуры флуоресцировали сиреневым светом, а другой — желтым.

Интересно отметить, что на Московском заводе санитарии и гигиены в течение нескольких лет готовая продукция, изготовленная на основе

*) Инсулин—гормональный препарат поджелудочной железы — готовится в виде солянокислого раствора с рН=2,0—3,0 и разливается в стеклянные флаконы, которые укупориваются резиновыми пробками.

НК (например, инсулиновые пробки), а также все материалы резинового производства, поступающие на завод, предварительно просматриваются под фильтрованными ультрафиолетовыми лучами и сравниваются с эталонными образцами.

4. Использование оценок яркости люминесценции

И н г р е д и е н т ы. Интенсивности люминесценции материалов резиновой промышленности оценивались в большинстве случаев визуально путем сравнения с эталонными образцами, и лишь в немногих работах проводились измерения интенсивности. В 1934 г. Буржуа [61] применил для этого фотометрические измерения, а Карстен [62] — фотографический метод.

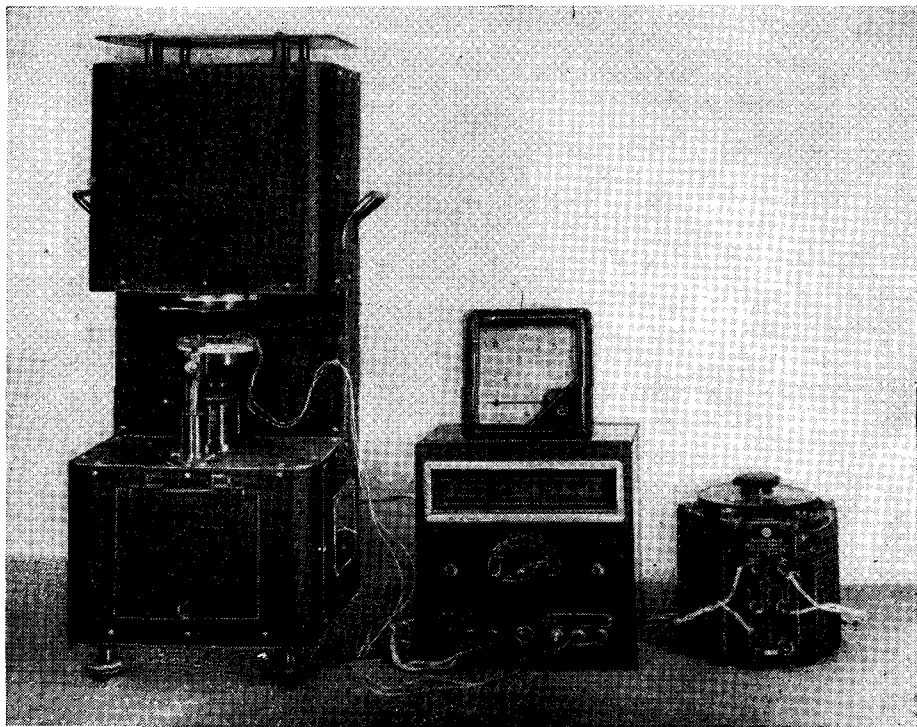


Рис. 62. Внешний вид прибора КФА-1.

Работа по измерению интенсивности флуоресценции проводится в настоящее время в Научно-исследовательском институте резиновых и латексных изделий. Сконструирован прибор КФА-1*) для количественного флуоресцентного анализа. Внешний вид прибора КФА-1 показан на рис. 62. Люминесценция образца (твердого, сыпучего или жидкого) возбуждается фильтрованным светом лампы ПРК-4. Приемником служит фотоэлемент, соединенный с зеркальным гальванометром с чувствительностью 10^{-9} а. Ниже в таблице 34 приводим результаты наших измере-

*) В создании прибора принимали участие А. Я. Гохштейн, Ю. П. Сидельниковский, В. А. Рощин.

ний, выраженные в мм шкалы гальванометра (1 мм шкалы соответствует $4,87 \cdot 10^{-9}$ а). Для измерения одного образца достаточно 1—2 минут.

Как показывают данные таблицы 34, интенсивность флуоресценции может служить дополнительным показателем, характеризующим качество испытываемого материала. По интенсивности флуоресценции можно судить о чистоте материала. Так, например, интенсивность флуоресценции для технического дифенилгуанидина равна 49 относит. ед., а для химически чистого продукта—26 относит. ед. Для химически чистой окиси магния она составляет 3,0, а для магнезии уста (технического продукта)—27.

Таблица 34

№ п/п	Ингредиент	Относительная интенсивность люминесценции	№ п/п	Ингредиент	Относительная интенсивность люминесценции
1	Альдоль- α -нафтиламин	150	14	Магнезия уста . . .	27
2	Альтакс	4	15	Окись магния химически чистая . . .	3
3	Дибутилфталат	220	16	Парафин	300
4	Дифенилгуанидин технический	49	17	Стеариновая кислота	130
5	Дифенилгуанидин химически чистый	26	18	Стеарат цинка . . .	52
6	Дибутилсебацнат . . .	43	19	Сульфат бария . . .	15
7	Каптакс технический	9	20	Сажа белая	12
8	Каптакс химически чистый	7	21	Титановые белила	5
9	Канифоль	63	22	Тиурам	12
10	Литонон	17	23	Уайт-спирит	30
11	Мазут	62	24	Уротропин тертый	20
12	Мел	12	25	Фактис светлый . . .	74
13	Неозон «Д»	250			

С помощью прибора КФА-1 можно проводить количественную оценку интенсивности люминесценции ингредиентов светлых резиновых смесей на основе НК и их вулканизатов.

С целью расширения области применения количественного люминесцентного метода к материалам резинового производства, разница в цвете и интенсивности свечения которых визуально незаметна, в НИИ резиновых и латексных изделий (НИИР) разработана и сконструирована более совершенная аппаратура — прибор КФА-2*) (см. гл. VII, стр. 120). Благодаря высокой чувствительности прибора впервые появилась возможность в резиновой промышленности проводить измерения очень слабых интенсивностей люминесценции (глазом почти не наблюдаемой). К материалам с низкой интенсивностью свечения относятся резиновые смеси на основе НК и некоторых видов СК, сильно наполненные углеродными сажами. Время, необходимое на проведение одного определения на описанных приборах (КФА-1 и КФА-2), составляет 1—2 мин.

Резиновые смеси. Измерения интенсивности люминесценции были нами использованы для контроля резиновых смесей. Если в смеси все ингредиенты хорошо перемешаны, то интенсивность люминесцен-

*) В разработке конструкции прибора принимали участие А. Я. Гохштейн и А. Ф. Волков.

ции во всех точках смеси должна быть одинаковой. Результаты измерений приведены на рис. 63.

В таблице 35 приведены данные, показывающие, как изменяется интенсивность люминесценции резиновой смеси в отсутствие того или иного ингредиента.

Таблица 35

№ п/п	Характеристика образца	Интенсивность люминесценции в условн. ед.	
		смесь 1	смесь 2
1	В смесь введены все ингредиенты по рецепту	32	27
2	В смесь не положена окись цинка	40	53
3	В смесь не положен альдоль- α -нафтиламин	13	10
4	В смесь не положена сера	73	59

Отсутствие в светлой резиновой смеси того или иного ингредиента в ряде случаев вызывает резкое изменение цвета люминесценции смеси.

При работе следует использовать как изменения интенсивности люминесценции, так и наблюдения цвета свечения.

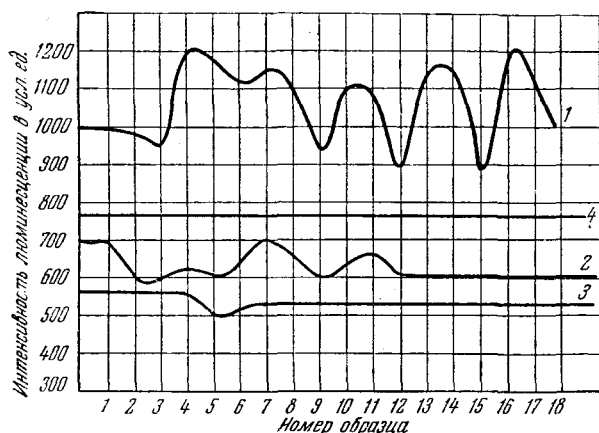


Рис. 63. Определение равномерности распределения ингредиентов по интенсивности люминесценции резиновых смесей:

1 — плохое распределение, 2 — значительно лучшее, 3 — еще лучшее, 4 — отличное.

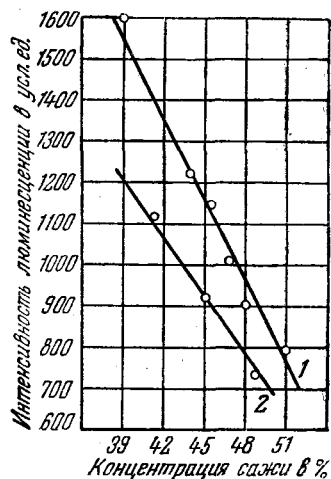


Рис. 64. Изменение интенсивности люминесценции резиновой смеси в зависимости от содержания сажи (ламповой) для каучука СКБ-356р. (кривая 1) и для каучука СКН-40 (кривая 2).

Измерения интенсивности люминесценции различных резиновых смесей на основе НК, СКС, СКН, СКБ и др. каучуков в зависимости от вида и количества введенной в них сажи дали также практически интересные результаты. Очевидно, что введение сажи вызывает уменьшение яркости люминесценции резиновой смеси (рис. 64), однако, как было установлено, различные типы сажи по-разному ослабляют люминесценцию одной и той же смеси (рис. 65).

По способности ослаблять люминесценцию резиновых смесей сажи можно расположить в следующий убывающий ряд: газовая, ацетиленовая, антраценовая, печная, форсуночная, ламповая и термическая.

Резиновая смесь, содержащая 15% газовой и 35% форсуночной сажи, характеризуется интенсивностью люминесценции, равной 450 усл. ед. Резиновые смеси, содержащие 50% только форсуночной или 50% только газовой сажи, соответственно обладают интенсивностью люминесценции 1060 и 380 усл. ед.

Полученные данные указывают на возможность определять по интенсивности люминесценции тип сажи, ее концентрацию и равномерность распределения ингредиентов в резиновых смесях. Таким образом, если предварительно приготовить эталоны и вывести для них средние интенсивности люминесценции, то в производственных условиях по этим показателям можно контролировать резиновые смеси.

Вулканизаты. По вопросу о возможности использовать люминесцентный анализ для контроля оптимума вулканизации в литературе нет единого мнения. Бруни [59] утверждает, что интенсивность люминесценции может служить критерием

для оценки степени вулканизации резиновых смесей и что наиболее резкие изменения интенсивности люминесценции имеют место вблизи оптимума вулканизации, определяемого по сопротивлению разрыву. В 1934 г. Моррис [48] и Баррон [51] на основании своих данных отрицали возможность по интенсивности люминесценции контролировать оптимум вулканизации. Оберто [60] исследовал несколько сот резиновых смесей и показал, что интенсивность люминесценции увеличивается в зависимости от степени вулканизации, если в смеси нет большого количества сильно люминесцирующих ингредиентов (литопон, некоторые сорта окиси цинка, органические красители) и содержание сажи не превышает 2%.

Нами наблюдалось, что недовулканизованные светлые резины на основе НК обычно обладают низким

значением интенсивности свечения. Резины, свулканизованные в оптимуме и перевулканизованные, светятся более ярко с преобладанием светлых тонов. На рис. 66 показано изменение интенсивности

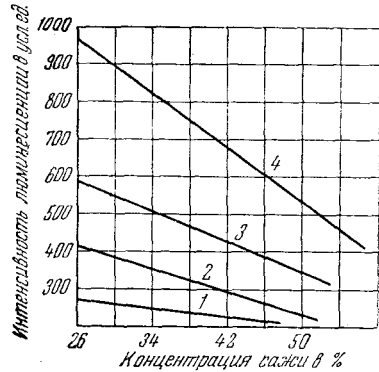


Рис. 65. Изменение интенсивности люминесценции резиновой смеси в зависимости от концентрации сажи:

1 — газовая сажа; 2 — ацетиленовая; 3 — антраценовая; 4 — печная.

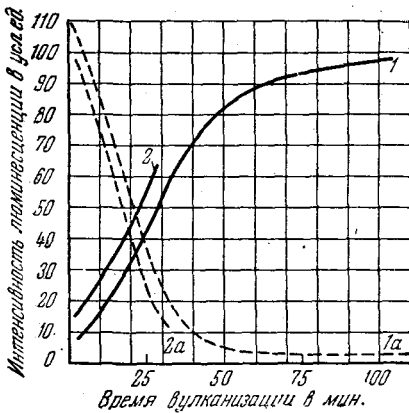


Рис. 66. Изменение интенсивности люминесценции и содержания свободной серы светлых резин на основе НК в зависимости от времени вулканизации (для двух образцов): 1 и 2 — интенсивность люминесценции; 1а и 2а — содержание свободной серы.

люминесценции светлых резин на основе НК в зависимости от

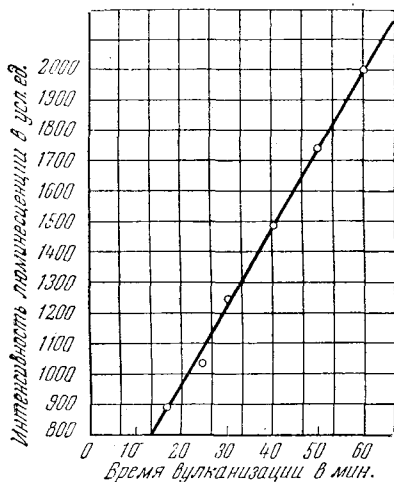


Рис. 67. Изменение интенсивности люминесценции резины из НК (наполненной углеродной сажей) в зависимости от времени вулканизации.

Таким образом, путем измерения интенсивности люминесценции можно контролировать процесс вулканизации резин из натурального каучука.

5. Задачи, разрешаемые методами люминесцентного анализа

В заключение приведем описанные в литературе случаи применения люминесцентного анализа для решения отдельных задач.

Берман и Рачкулик [49], [63] использовали люминесцентный анализ в кабельной промышленности для сортового экспресс-контроля ингредиентов и резиновых смесей, для обнаружения неоднородности ингредиентов, а также для изучения диффузии масел и нефтей; полученные данные они использовали в качестве критерия для оценки масло-бензостойких резин [64].

Кузьминский и др. [65] применили люминесцентный анализ для изучения диффузии различных антиоксидантов в каучуках.

Сержер и Люков [66] пытались определять качество резиновых колец для консервных банок по их люминесценции.

Меньшиков [67] приводит данные по старению эбонита под действием ультрафиолетовых лучей в сопоставлении с результатами люминесцентного анализа эбонита.

Люминесцентный анализ может быть использован для быстрого распознавания и систематического изучения изменений, проходящих в результате естественного и искусственного старения каучука и резин; об этом говорится в работе Догадкина [68], посвященной структурным изменениям каучука, вызываемым действием молекулярного кислорода на натрий-бутадиеновый каучук. Автор указывает как на побочное явление на изменение цвета флуоресценции: фиолетовое свечение каучука переходит в светло-зеленое. В этой работе автор обращает внимание на подобные же изменения цвета флуоресценции при вулканизации каучука с серой.

на основе НК в зависимости от времени вулканизации. При этом чем больше время вулканизации, тем выше интенсивность люминесценции (кривые 1 и 2). Однако интенсивность люминесценции возрастает резко только вначале. На рис. 66 также показана взаимосвязь между интенсивностью люминесценции и изменением содержания свободной серы в зависимости от времени вулканизации (кривые 1а и 2а). Установлено, что интенсивность люминесценции возрастает до тех пор, пока в резине изменяется (уменьшается) количество свободной серы.

Полученные данные позволяют определять свободную серу в светлых резиновых смесях на основе НК.

Впервые показано, что с увеличением времени вулканизации и в резинах на основе НК, сильно наполненных углеродными сажами, также наблюдается увеличение интенсивности люминесценции (рис. 67).

Прокофьев [69] применил люминесцентный микроскоп для исследования флуоресценции каучуконосов. Хаузер [58] установил, что под действием нагревания и освещения противостарители и ускорители изменяют цвет флуоресценции. Он использовал люминесцентную микроскопию для суждения о степени дисперсности и агломерации наполнителей в смеси.

Исследование латексных смесей дает возможность обнаружить конгломераты из различных наполнителей, определяемых по цвету их флуоресценции.

Из изложенного видно, каким мощным вспомогательным средством в руках химика-резинщика является люминесцентный анализ, позволяющий в отдельных случаях полностью заменить громоздкие и длительные методы химического анализа.

В. ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ МЕТОД В ПРИМЕНЕНИИ К МАСЛАМ В ЭНЕРГЕТИКЕ И ХИМИЧЕСКОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Из других применений люминесцентного анализа в технике остановимся на люминесцентном экспресс-методе анализа минеральных масел.

По мере очистки масел их флуоресценция становится все бледнее; рафинированное масло не флуоресцирует или почти не флуоресцирует [70, 3]. Если тем не менее по цвету флуоресценции удастся опознавать чистые масла различных зарубежных марок, то это в значительной мере объясняется тем, что фирмы «подкрашивают» масла флуоресцентными веществами, имитируя тем самым привычный для покупателя вид масла [71].

Для выявления отдельных компонентов масел и выяснения их состава применяют люминесцентно-хроматографический [72] метод. Этим путем удается идентифицировать масла, а равным образом ориентироваться в степени их очистки, составе и происхождении. Цвет флуоресценции масел с парафиновыми, нафтеновыми и асфальтеновыми основаниями различен [73]; в констатации этого факта нет расхождения между отдельными авторами, в общем же данные, сообщаемые разными наблюдателями, нередко являются противоречивыми. Вопрос требует детального изучения (ср. гл. XV, стр. 283).

В 1951 г. [73] для идентификации жидких горючих и смазочных масел, противозаконно спускаемых морскими кораблями в воды гаваней, был применен метод хроматографирования на бумаге: от нанесенной на бумагу капли горючего или масла образуется широкое пятно с характерной люминесценцией, позволяющей установить происхождение масла и тем самым виновника загрязнения вод. Если масло вязкое, бумагу с нанесенной каплей нагревают или предварительно растворяют масло в керосине.

Многие авторы пытались найти в люминесценции масла объективный критерий для суждения о степени отработанности смазочных масел, находящихся в эксплуатации [74]. На основании имеющихся по этому вопросу противоречивых данных трудно прийти к каким-либо окончательным выводам.

Люминесцентный метод используют для определения содержания небольших количеств нефтяных и каменноугольных масел в различных средах, например в воде, в жидком кислороде, в продукции химической промышленности. Особенность этих определений заключается в следующем: в маслах люминесцирует не основная углеводородная масса, а опре-

деленные входящие в нее компоненты, например антрацен и его производные, различные полициклические соединения и т. д.; поэтому интенсивность свечения испытуемого раствора масла зависит не только от содержания в нем масла, но и от концентрации и состава люминесцирующих компонентов масла.

Из сказанного ясно, что результаты люминесцентного анализа надежны только при неизменном содержании люминесцирующих компонентов в основной углеводородной части масел, как это имеет место при загрязнении анализируемых продуктов определенным маслом, смесью масел, близких по составу, или смесью масел с устойчивым соотношением отдельных составляющих этой смеси.

Люминесцентный анализ не обладает надежностью в тех случаях, когда анализируемые вещества загрязняются различными нефтепродуктами в произвольных соотношениях, например из различных источников. При одинаковой концентрации растворов турбинного и цилиндрикового масел первый обладает значительно более слабой флуоресценцией, чем второй. Таким образом, присутствие различных масел в произвольных соотношениях вносит ошибку в определение, и тем большую, чем больше разница в интенсивности свечения образцов масел, загрязняющих продукт, при одинаковой их концентрации в растворах.

1. Определение нефтяных и каменноугольных масел в водах

Очистка загрязненного нефтяными продуктами конденсата, предназначенного для питания паровых котлов, — одно из условий надежной работы котельных. Нефтяные масла способствуют вспениванию воды и загрязнению поверхностей нагрева котлов. Поэтому необходимо нормирование содержания нефтяных продуктов в питательной воде.

Нормы [75] допускают содержание масел не свыше $4,0 \text{ мг/л}$ в питательной воде для котлов низкого и среднего давления и требуют полного отсутствия масел в питательной воде для котлов с давлением 120 атм. Для нормирования качества питательной воды и контроля работы обезмасливающих установок необходимы чувствительные, надежные и быстрые методы анализа.

Обычно рекомендуемая для определения наличия масел в воде проба с камфарой [76] очень чувствительна к «следам» животных жиров; однако она дает отрицательный результат при содержании в воде нефтяных масел в количествах свыше $3,0 \text{ мг/л}$ [77]. Не увенчались успехом попытки применить количественные методы, основанные на восстановительных свойствах нефтяных масел по отношению к перманганату калия, а также на измерениях вязкости и поверхностного натяжения конденсатов, изменяющихся в зависимости от концентрации нефтяных продуктов в них; не дало также положительного результата и применение сорбционных методов [78].

Официально принятым остается весовой метод [79], заключающийся в извлечении масла из воды эфиром, с последующей отгонкой эфира, высушиванием и взвешиванием масла. Весовой метод точен, но занимает 5—6 часов, в связи с чем не может удовлетворить требованиям эксплуатационного контроля; кроме того, чувствительность весового метода невелика.

Эти обстоятельства заставляли искать новые пути; в результате появился ряд работ по определению нефтяных и каменноугольных масел люминесцентным методом.

При определении содержания масел в воде большое значение имеет правильный отбор пробы. При наличии в воде «свободного» в виде пленки масла для отбора пробы следует применять стальные трубки с заглушкой с одного конца и с щелью, прорезанной по всей длине части, входящей в трубопровод. Щель пробоотборной трубки должна быть направлена навстречу потоку воды. Скорость поступления воды в щель трубки должна быть примерно равна скорости движения воды в трубопроводе.

Для отбора пробы воды, содержащей незначительное количество масла, например после фильтров с активированным углем, можно применять обычный пробоотборный кран.

Отбор проб воды следует производить без применения холодильника, непосредственно в делительную воронку, на которой нанесена черта, указывающая объем отбираемой воды. Делительная воронка должна быть предварительно тщательно вымыта, а кран и пробка смазаны чистым глицерином. Перед отбором пробы воронку не споласкивают исследуемой водой, а сразу набирают необходимый объем ее, полностью используемый для испытания.

Особое внимание при проведении люминесцентного анализа должно быть уделено подготовке растворителей.

Для очистки растворителей от обычно содержащихся в них флуоресцирующих примесей их подвергают перегонке, используя для этого перегонные аппараты со шлифом или экстракционный аппарат Сокслета.

Необходимо следить, чтобы уровень растворителя не доходил до верхней точки сифона в аппарате Сокслета (своевременно прекращать подогрев колбы). Растворитель из экстрактора переливают в склянку для чистого растворителя через сифон, наклоня экстрактор таким образом, чтобы сифон наполнился жидкостью. После перегонки растворитель наливают в кювету и проверяют под ультрафиолетовыми лучами. Если растворитель флуоресцирует, перегонку повторяют *).

В отличие от чистого растворителя, растворитель, загрязненный флуоресцирующими примесями, кажется под ультрафиолетовыми лучами непрозрачным; цвет свечения голубоватый или фиолетовый. При перегонке и хранении растворителей не следует пользоваться резиновыми или корковыми пробками, так как они загрязняют растворители, вызывая заметную флуоресценцию; растворители следует хранить только в склянках со стеклянными притертыми пробками.

Нефлуоресцирующие растворители при их фильтровании через бумажные фильтры начинают люминесцировать. Если свечение значительно, фильтры следует предварительно обработать растворителем в аппарате Сокслета. Обработку прекращают, когда проба растворителя, взятая из экстрактора и помещенная в кювету, перестает заметно флуоресцировать. После этого фильтры пинцетом извлекают из экстрактора и сушат в сушильном шкафу при 80° С. Высушенные фильтры сохраняются в банке со стеклянной притертой пробкой. Посуда, применяемая при проведении люминесцентного анализа, должна быть тщательно вымыта хромовой смесью и водой или употребляемым для анализа чистым растворителем.

Люминесцентный качественный метод определения масла в воде [80] сводится к констатации более интенсивной флуоресценции бензиновой вытяжки из исследуемого конденсата по сравнению с бензиновой вытяжкой из конденсата того же пара, но до прохождения им источника загрязнения маслом.

*) Светофильтр УФС-3 частично пропускает видимый свет и создает видимость красновато-фиолетового свечения. (Не смешивать со свечением раствора!)

Методика определения: 150 мл исследуемой воды отбирают в делительную воронку, приливают 10 мл нефлуоресцирующего бензина и взбалтывают 5 мин. Добавляют 1—2 капли концентрированной серной кислоты, смесь перемешивают и оставляют отстаиваться. После отстаивания воду сливают, а 5—7 мл вытяжки переносят в кювету, которую устанавливают в гнезде штатива люминометра РП-3 (см. гл. VII, рис. 45); во второе гнездо устанавливают другую кювету с таким же объемом одинаково приготовленной вытяжки из той же воды, но до загрязнения ее маслом.

Масла, содержащие сравнительно большое количество смолистых веществ, например индустриальное «45» и цилиндрическое «2», хорошо обнаруживаются этим методом при содержании их в воде порядка 0,1 мг/л. Турбинное масло, более тщательно очищенное от смолистых веществ, надежно обнаруживается (в тех же условиях) при содержании его в воде не менее 0,2 мг/л (при определении без обогащения пробы).

Присутствие в воде до 20 мг/л NH_4^+ , до 20 мг/л Fe^{3+} , а также совместное присутствие до 65 мг/л Ca^{2+} , до 15 мг/л Mg^{2+} , до 50 мг/л Cl^- и до 100 мг/л SO_4^{2-} не мешают определению.

Количественное определение масел в воде [80] проводится тоже с помощью люминометра РП-3.

При освещении ультрафиолетовым светом из микробюретки добавляют эталонный раствор к чистому растворителю, пока флуоресценция его не станет такой же, как у анализируемого раствора; последний готовят из исследуемой воды извлечением из нее масла тем же растворителем.

Основным условием получения достаточно точных результатов при использовании этой методики является правильный выбор эталонного раствора как в отношении цвета флуоресценции, так и применяемой концентрации.

Удобными местами отбора масла для приготовления эталонных растворов являются механические маслоотделители, баки-отстойники и т. п. После отбора пробы отделяют масло от воды экстрагированием эфиром. Эфирную вытяжку фильтруют через бумажный фильтр в предварительно взвешенную колбочку. Эфир отгоняют (на водяной бане), остаток масла в колбочке высушивают в сушильном шкафу при 80° С в течение 1 часа. Если источники получения обогащенной смеси отсутствуют, масло извлекают из загрязненной воды с возможно большим содержанием масла, т. е. до очистительных сооружений. Для извлечения лучше применять эфир петролейный, а не серный. Процесс экстрагирования производится, как указано выше. При малом содержании масла в воде можно одной порцией эфира обработать несколько порций воды (до 3—5 л).

Приготовление эталонного раствора и проверка его концентрации в процессе работы производится следующим образом: отвешенное (на аналитических весах) в стаканчике масло (0,3—0,6 г) растворяют в нефлуоресцирующем растворителе. Как для анализа, так и для приготовления эталонного раствора должен употребляться один и тот же растворитель: бензин или бензол. Раствор переводится в мерную колбу на 100 мл; разбавлением основного раствора готовятся рабочие эталонные растворы с концентрацией масла от 0,05 до 0,5 мг/мл.

Масла могут терять отдельные компоненты в процессе промежуточных этапов очистки конденсата или пара; с изменением содержания компонентов в масле может измениться отношение между интенсивностью люминесценции раствора и содержанием в нем масла. Поэтому если только масло для приготовления эталонного раствора извлечено не непосредственно из исследуемой воды, то необходимо проверять концентрацию эталонного раствора. Для этого отбирают 0,5 л исследуемой воды (если

содержание масла в воде превышает 10 мг/л, можно брать и меньший объем) и в делительной воронке извлекают масло 100—120 миллилитрами нефлуоресцирующего петролейного или серного эфира, как описано выше. После отделения эфирного слоя его переносят в высушенную и взвешенную колбочку. Если эфирный раствор содержит твердые частицы, то его фильтруют в колбу через беззольный фильтр; фильтр промывают эфиром, собирая последний в ту же колбу. Эфир отгоняют, а колбу с оставшимся маслом сушат при 80° С один час в сушильном шкафу, охлаждают в эксикаторе и взвешивают. Затем масло растворяют в нефлуоресцирующем растворителе — бензоле или бензине. Концентрация масла в полученном растворе должна быть примерно в десять раз меньше, чем в рабочем эталонном растворе (растворитель дозируется из бюретки с краном). В люминометр помещают кювету с 10 мл раствора и во второе гнездо — кювету, содержащую 9 мл нефлуоресцирующего растворителя. В нее по каплям из микробюретки добавляют рабочий эталонный раствор до выравнивания интенсивности свечения растворов в обеих кюветах; при этом содержимое кюветы перемешивается специальной мешалкой, удаляемой на время сравнения интенсивностей флуоресценции растворов (см. стр. 119).

Обозначим: M — вес масла, извлеченного из исследуемой воды и содержащегося в 10 мл растворителя; n и C — объем и концентрация эталонного раствора, добавленного к 9 мл чистого растворителя.

Установленное по флуоресценции равенство концентраций запишется, очевидно, так: $\frac{C \cdot n}{9+n} = \frac{M}{10}$; можно $9+n$ приравнять 10, так как порождаемая этим ошибка лежит в пределах погрешности опыта; тогда проверяемая концентрация $C = \frac{M}{n}$ мг/мл. Здесь M выражено в мг, n — в мл, C — в мг/мл.

В процессе работы концентрация эталонного раствора проверяется вышеуказанным методом 2—3 раза в месяц. Хранить эталонный раствор следует в темном месте, в склянке с притертой стеклянной пробкой.

При определении по эталону концентраций масла в анализируемом растворе (в мг/1000 мл) равенство концентраций в обоих растворах, эталонном (C) и анализируемом (X), запишется так: $\frac{Cn}{v_1} = \frac{Xv_2}{1000 \cdot v}$; отсюда находим концентрацию масла в воде:

$$X = \frac{1000 n C v}{v_1 v_2} \left[\frac{\text{мг}}{\text{л}} \right].$$

Здесь n в мл — объем эталонного раствора масла, добавленный из микробюретки до объема v_1 ; C — концентрация масла в эталонном растворе, мг/мл; v — объем растворителя, взятый для экстрагирования, мл; v_1 — объем раствора масла, залитый в кювету, мл; v_2 — объем воды, взятый для анализа, мл.

В формуле расчета содержания масла не учитывается разница в объемах сравниваемых растворов, так как если разница в объемах составляет даже 1 мл, то и тогда обуславливаемая этим ошибка все же лежит в пределах погрешностей оценки объема раствора масла в кювете по высоте столба жидкости в ней: при диаметре кюветы 20 мм 1 мл отвечает разности высоты уровней в 3 мм.

Если цель анализа сводится к выяснению, выдерживается ли в исследуемой воде норма по содержанию масла, то выполнение анализа можно

ускорить: в кюветы наливают в одинаковых объемах эталонный раствор, соответствующий по концентрации норме содержания масла, и вытяжку из исследуемой воды. В люминесцентре сравнивают интенсивность флуоресценции растворов. Более интенсивная флуоресценция одного из растворов свидетельствует о более высоком содержании масла в нем.

При работе по методу сравнения следует выбрать определенные и постоянные объемы исследуемой воды и растворителя. Необходимая концентрация эталонного раствора (C), применяемого для метода сравнения, определяется по формуле:

$$C = \frac{C_n v_2}{1000 v} \left[\frac{mg}{л} \right],$$

где C_n — норма содержания масла в воде, $mg/л$; v_2 — объем воды, взятый для анализа, $мл$; v — объем растворителя, взятый для экстрагирования, $мл$.

С целью ускорения отслаивания бензиновой вытяжки от воды можно использовать следующий прием [81]: после добавления бензина, перемешивания и подкисления смеси непосредственно в делительную воронку вводится магниевая проволока или стружка, навитая на стеклянную палочку. Через 5—10 мин. — время, вполне достаточное для полного разделения слоев жидкостей, — магниевая проволока или стружка извлекается, вода из воронки сливается, а бензиновый экстракт используется, как обычно. Указанный прием был проверен Юдильевичем совместно с сотрудниками ЦНИИМФ. Было установлено, что введение магниевой проволоки не оказывает влияния на результаты определения и не изменяет оттенка флуоресценции бензинового экстракта.

Эталонные растворы сравнения можно готовить из водных растворов солянокислого хинина в кислой среде (голубая флуоресценция), сульфаниловой кислоты в щелочной среде (фиолетовая флуоресценция) и т. д. Для имитации «мутности», характерной для флуоресценции растворов масел, к указанным растворам можно добавить глицерин и водный раствор крахмала. Установка условной концентрации водных эталонных растворов производится, как указано выше; в кювету, куда добавляется эталонный раствор, наливают не бензин или бензол, а воду. Преимущества применения водных эталонных растворов заключаются в уменьшении расхода растворителей и улучшении гигиенических условий труда.

Более прост, но менее точен и чувствителен метод определения содержания нефтяных масел, предложенный Литвиновой [82] в двух вариантах: экспресс-метод и метод с отделением экстрагирующей жидкости. По экспресс-методу в градуированную пробирку отбирается 5—20 $мл$ конденсата (в зависимости от ожидаемого содержания масла), добавляют 5 $мл$ нефлуоресцирующего бензола и пробирку, заткнутую притертой пробкой, энергично встряхивают 3 мин. После отстаивания сравнивают интенсивности флуоресценции слоев бензола в пробирках с испытуемым раствором и с эталонными растворами. Освещение пробирок ультрафиолетовым светом и наблюдение флуоресценции производится сбоку, в затемненной комнате. Эталонные растворы готовят растворением определяемого масла в бензоле с добавлением соответствующего количества дистиллированной воды, не содержащей масла. Наличие в пробирке отстоявшегося слоя воды, по словам автора, не мешает определению.

При малом содержании масла в конденсате или при малой интенсивности флуоресценции масла автор рекомендует метод с предварительным концентрированием. Для этого 100—300 $мл$ конденсата, в зависимости

от содержания в нем масла, экстрагируется 100—120 мл нефлуоресцирующего этилового (серного) эфира. После разделения слоев эфир удаляют отгонкой, масло растворяют в 5 мл бензола и сравнивают интенсивность флуоресценции полученного раствора и эталонов.

Другой вариант количественного определения содержания масел в конденсате был разработан в Научно-исследовательском и проектном институте азотной промышленности [75, 83]. Отличие этого метода от описанных выше заключается в том, что для экстрагирования масла применен четыреххлористый углерод. Эталонные растворы готовят из того самого масла, содержание которого определяют в воде. Для этого 50 миллилитрами четыреххлористого углерода извлекают масло из 1 л конденсата; слив верхний водный слой, снова наливают 1 л воды и повторяют извлечение. Отмечается, что нельзя допускать образование эмульсии. Таким образом, одной порцией четыреххлористого углерода извлекают масло из 2—5 литров конденсата. Эталонных растворов готовят две серии по пяти образцов. Первая серия содержит от 0 до 0,05 мг масла в 1 мл четыреххлористого углерода, вторая — от 0 до 0,01 мг/мл.

Для определения содержания масла из 0,2—1 л испытуемого конденсата (в зависимости от содержания в нем масла) повторно в делительной воронке извлекают масло сначала 25, а потом 20 миллилитрами четыреххлористого углерода; каждый раз нижний слой четыреххлористого углерода с растворившимся в нем маслом сливают в одну и ту же мерную колбу (на 100 мл) и, добавляя четыреххлористый углерод, доводят объем полученного раствора до метки. Концентрацию его определяют сравнением с эталонными растворами.

Аналогичные работы по определению содержания масел в водах, с применением люминесцентного анализа, проводились также за рубежом, например в Англии [84]. В этих работах первоначально проверялась возможность непосредственного определения масла в воде, но этот вариант был отвергнут.

В Англии был сконструирован прибор для сравнения интенсивности флуоресценции раствора масла, извлеченного из питательной воды, и эталонных растворов. В качестве растворителя для извлечения масла и приготовления эталонных растворов применялся эфир (что, по нашему мнению, весьма неудобно в связи с большой летучестью и огнеопасностью этого растворителя). Английские авторы отмечают различие в цвете флуоресценции различных масел и указывают на необходимость приготовления отдельных эталонных растворов для каждого загрязняющего масла. Отмечено также, что затрата времени на проведение анализа люминесцентным методом мала—15 мин. В применявшемся приборе имелся поворотный столик, в отверстиях которого устанавливались кюветы со стандартными растворами. Перемещение поворотного столика регулируется при помощи механизма, соединенного с индикатором, снабженным шкалой с указанием концентрации стандартных растворов. Оптическая система прибора такова, что испытуемый и стандартный растворы можно видеть одновременно и сравнивать интенсивность их флуоресценции.

Авторы указывают, что прибор давал удовлетворительные результаты при содержании масла в питательной воде до 10 мг/л, однако при концентрации менее 3 мг/л устанавливать разницу флуоресценции испытуемого и стандартного растворов было затруднительно. Для повышения чувствительности был сконструирован другой прибор, в котором источник света помещался в центре, а кюветы со стандартным и испытуемым растворами—по обе стороны. Оптической системой прибора достигалось

соприкосновение полей сравнения от обеих кювет вдоль линии раздела (как в колориметре Дюбоска). В дальнейшем визуальное сравнение было заменено объективными измерениями при помощи фотоэлемента с гальванометром. Гальванометр градуировался по серии эталонных растворов с различной концентрацией масла в них.

Т а б л и ц а 36

Взято масла, мг/мл	Найдено масла, мг/мл	Относительная ошибка, %
0,150	0,155; 0,159; 0,158	3,3÷6,6
0,100	0,104; 0,104	4,0
0,0025	0,0026; 0,00255	4,0÷2,0
0,00025	0,00026; 0,000255	4,0÷2,0

В заключение отметим, что метод определения содержания масла в воде по концентрации эталонного раствора, яркость которого снижают разбавлением в люминиметре РП-3 до яркости испытуемого раствора, имеет, по-видимому, значительное преимущество перед другими методами. В самом деле, в этом методе (в противоположность методу сравнения

Т а б л и ц а 37

Определено масла в воде, мг/л		Относительная ошибка люминесцентного метода, %
весовым методом	люминесцентным методом	

Конденсат пара, возвращаемый с прокатного стана; масло соляровое

52,0	51,8	-0,4
52,8	52,7	-0,2
46,4	45,7	-1,5
46,0	46,5	+1,1
2,0	2,2	+10,0
66,2	66,5	+0,5

Котловая вода паровозов; масло антраценовое

22,8	22,6	-0,9
19,8	19,6	-1,0
34,0	34,0	0,0

Конденсат мягого пара паровых машин; масло цилиндрическое *)

1,0	0,95	-5,0
6,2	6,0	-3,3
8,2	9,0	+8,9
21,0	22,0	+4,5
32,4	33,0	+1,8
198,0	190,0	-4,2

*) По данным водяной лаборатории ЦНИИМФ; параллельные анализы проводились тремя сотрудниками с получением совпадающих результатов.

с набором эталонов) концентрация эталонного раствора меняется непрерывно и предел чувствительности определяется способностью глаза улавливать разницу в интенсивностях свечения (ср. стр. 86). Применение люминометра РП-3 создает благоприятные условия наблюдения и обеспечивает хорошую воспроизводимость анализов, как это видно из таблицы 36, где сопоставлены результаты опытов по проверке воспроизводимости и чувствительности метода.

В таблице 37 дается сравнение результатов весового и люминесцентного методов определения содержания масел в водах.

По данным Водного отделения Всесоюзного теплотехнического института, где проводились испытания люминометра, относительная ошибка при определении содержания масла при помощи этого прибора не превышает 10%.

Интересная работа по сравнению различных методов (в том числе и люминесцентного) определения масла в воде и конденсате была выполнена К. Е. Истоминой [83]. Сравнивая весовой, пикнометрический и люминесцентный методы, автор приходит к выводу, что наиболее точным и быстрым является люминесцентный метод.

В настоящее время люминометры РП-3 внедрены на 24 предприятиях, главным образом черной металлургии, для контроля за содержанием масла в конденсате. Вышеуказанные методики нашли также применение на электростанциях и предприятиях химической (главным образом азотной) промышленности.

2. Определение содержания нефтяных масел в промышленных растворах аммиачной селитры, азотной кислоты и аммиака

Аналогичный люминесцентный метод с успехом применен на одном азотно-туковом заводе для определения содержания нефтяных масел в промышленных растворах аммиачной селитры [85] и в растворах азотной кислоты [86]. В обоих случаях в качестве растворителя применялся четыреххлористый углерод, концентрация масла определялась по эталонным растворам, интенсивность свечения которых сравнивалась со свечением анализируемого раствора. Установлено хорошее совпадение результатов, получаемых весовым и люминесцентным методами. Отмечается, что при люминесцентном методе продолжительность проведения испытаний снижается с 2,5 часа до 30 мин.

Для определения масла в газообразном аммиаке отбирают газ в эвакуированные газовые пипетки (объемом 1 л) и через 20—30 мин., когда масло осядет на стенках, смывают его четыреххлористым углеродом. Этот вариант метода можно рекомендовать, если масла в газе больше 10 мг/л. В другом варианте газ пропускают через три поглотителя, в которые налиты четыреххлористый углерод и серная кислота. Газ пропускают до изменения в первом поглотителе цвета заранее добавленного индикатора — метилового красного.

Количество пропущенного аммиака определяют путем оттитрования 0,5 н раствором NaOH избытка кислоты в слитых вместе водно-кислотных слоях из поглотителей, к которым добавляют и промывные воды. Количество масла находят визуальным сравнением яркости свечения растворов в четыреххлористом углероде — эталонных и анализируемого. Для приготовления последнего сначала путем отгонки доводят объем объединенных слоев четыреххлористого углерода до 2—2,5 мл, а затем, перенеся в мерную колбу (пикнометр на 5 мл), доводят объем до метки. При приго-

товлении эталонных растворов аммиак пропускают через склянку с четыреххлористым углеродом; из полученного раствора отгоняют растворитель, остающееся масло сушат при 60—70° С, взвешивают и готовят шесть эталонных растворов с содержанием масла от 0 до 0,05 мг/мл и другие шесть с содержанием от 0 до 0,01 мг/мл.

3. Определение содержания нефтяных масел в жидком кислороде

Жидкий кислород, получаемый сжижением воздуха и последующей его ректификацией, может быть загрязнен смазочными маслами, попадающими в него из компрессоров и детандеров, в связи с чем необходимо иметь быстрый метод анализа жидкого кислорода на содержание масла. Весовой метод требует испарения больших объемов жидкого кислорода, что значительно удлиняет время определения.

Во Всесоюзном научно-исследовательском институте кислородного машиностроения был испробован люминесцентный метод, позволивший в 10 раз уменьшить объем испаряемого кислорода [87].

Набор эталонов в этом случае готовился из масла, снятого со стенок цистерн (в которых хранился жидкий кислород). Растворением навески масла в дихлорэтаноле получался раствор, содержащий 0,1 мг масла в 1 мл и служивший для приготовления эталонных растворов. (Дихлорэтан разлагается на свету, приготовленный набор надо хранить в темноте).

Для определения масла в жидком кислороде в колбу наливали 650 мл исследуемого жидкого кислорода и давали ему испариться. После испарения пробы колбу ополаскивали определенным объемом дихлорэтанола (8 или 16 мл) и определяли содержание масла в полученном растворе путем сравнения с эталонными растворами.

Г. ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В ТЕКСТИЛЬНОЙ И БУМАЖНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Применение люминесцентного анализа в текстильной промышленности позволило разрешить ряд практически важных задач. Ограничимся указанием некоторых из них.

Чрезвычайно полезным оказывается, по-видимому, обнаружение пятен масла, образующихся на материи из-за загрязнения смазкой ткацкого станка. Пятна эти легко заметить по их яркой флуоресценции при просмотре в ультрафиолетовом свете тканей, сходящих со станка. Этим путем удается избежать брака при дальнейшей покраске ткани.

В иностранных журналах ряд статей посвящен вопросам распознавания красителей по их флуоресценции в растворах и в адсорбированном состоянии [88—91].

При применении люминесцентной микроскопии и флуорохромов удается различать качество волокон ткани; например, флуорохром — сульфат оксихинолина — позволяет отличать по флуоресценции полотняную ткань от хлопковой [88]. По Гайтингеру, при покраске тканей из искусственного шелка примулиновой желтой становятся ясно различимы волокна ацетатного и вискозного шелка: первые флуоресцируют синим светом, вторые — желтым и т. д. В отчете по текстильной промышленности, помещенном в английском журнале в 1956 г. [88], говорится о смеси флуорохромов, позволяющей различать волокна шерсти, целлюлозы, ацетатной целлюлозы, нилона, «терилена» и «орлона».

Напомним хемилюминесцентную реакцию на перекись водорода, обуславливающую порчу тканей из ацетатного шелка (ср. гл. IX, стр. 138—139). Люминесцентным методом устанавливают полноту удаления клея (из льняного масла) при покраске искусственного шелка [90].

Весьма эффективным оказался люминесцентный контроль вытравной печати. Применение флуоресцентных индикаторов (флуоресцеина и α -нафтола в щелочном растворе) позволило сделать видимыми вытравные краски в процессе печатания. Ткани на машине освещают маленьким проектором — ртутной лампой с алюминиевым рефлектором и светофильтром. Метод позволил обнаруживать мелкие недостатки печати [92].

В бумажной промышленности люминесцентным методом обнаруживают двуокись титана и смоляные пятна в бумажной пульпе [93]; при ее исследовании применяют флуорохромирование [94].

Для изучения сульфитных сточных вод рекомендуют прибегать к люминесцентной хроматографии [95].

Д. ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В ДРУГИХ ОБЛАСТЯХ ТЕХНИКИ

1. Спектрально-люминесцентный метод определения содержания хрома в синтетических рубинах

Синтетические рубины *) широко применяют в современной технике для изготовления особо твердых элементов точных механизмов: подшипников, часовых камней и т. п. При их изготовлении и обработке существенно иметь метод, позволяющий контролировать содержание в этих деталях хрома, который обуславливает их интенсивную красную окраску; эта окраска облегчает обращение с мелкими камнями, размеры которых нередко составляют доли миллиметра. В то же время чрезмерно высокая концентрация хрома ухудшает механические свойства рубина, делая кристаллы хрупкими. Точная дозировка хрома при синтезе рубинов невозможна вследствие трудно контролируемого «выгорания» хрома. Осуществить контроль содержания хрома в готовых изделиях трудно, так как они зачастую имеют неправильную форму и это не позволяет воспользоваться методами, основанными, например, на измерении поглощения.

Отмечавшаяся выше (глава V, стр. 71) зависимость спектра люминесценции рубина от содержания хрома была использована П. П. Теофиловым и Л. А. Кузнецовой [96] при разработке спектрально-люминесцентного метода определения хрома в синтетических рубинах. Опишем этот метод несколько подробнее, поскольку использованный в нем новый прием может найти применение при решении и других люминесцентно-аналитических задач.

Разработанный авторами прибор изображен схематически на рис. 68. Возбуждающий свет от лампы ДРШ-250, падающий на изучаемый образец O , проходит через светофильтр Φ_1 (стекло УФСЗ), выделяющий ультрафиолетовую часть спектра, и через кювету K с раствором сернокислой меди, назначение которого — поглощать красные лучи, пропускаемые светофильтром Φ_1 . Свет люминесценции проектируется системой линз L_2 и L_3 на окно фотоэлектронного умножителя (ФЭУ) с кислородно-цезиевым фотокатодом, высокочувствительным в области излучения

*) Т. е. кристаллы состава $Al_{2-x}O_3Cr_x$.

рубина. В параллельном пучке между линзами устанавливаются светофильтры, выделяющие различные участки спектра люминесценции. Авторы

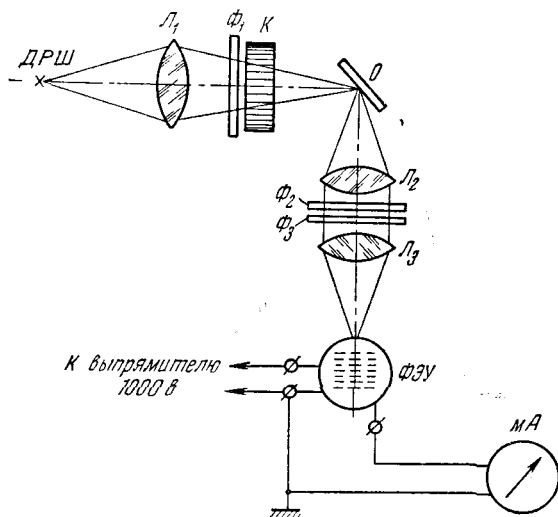


Рис. 68. Прибор для определения концентрации хрома в рубине.

применяли светофильтр RG-10, выделяющий инфракрасную часть спектра, начиная примерно с 750 мкм, и интерференционный светофильтр с максимумом пропускания около 700 мкм, позволявший выделять узкую спектральную область, охватывающую свечение резонансного дублета рубина (R_2 —692,7 мкм и R_1 —694,2 мкм) и близлежащих линий. Для количественной оценки спектрального состава люминесценции авторы составляли отношение фототоков $I_{\text{ИК}}/I_R$, наблюдаемых при поочередном введении этих светофильтров. Величина отношения оказалась резко зависящей от содержания

хрома в образце (рис. 69); авторы воспользовались полученной зависимостью для анализа содержания хрома в рубинах с неизвестной концентрацией этого элемента.

К исследуемым образцам в этом методе не предъявляется никаких требований в отношении формы, обработки поверхности, а также в значительной степени и размеров. Минимальная площадь участка образца, на котором авторам удавалось производить определение, составляла около 10 мм². Метод не требует применения сложной аппаратуры и позволяет производить определение, не разрушая образца и за чрезвычайно короткое время. Авторы оценивают точность метода в ~5% от определяемой величины.

2. Сортировка стекол и определение корунда в наждаке

Как дальнейшая иллюстрация возможностей люминесцентного анализа при его целесообразном использовании, интересны и следующие примеры.

Оптико-механический цех завода давал большой брак в результате того, что в процессе обработки перепутывались различные сорта стекла. Необходимо было найти способ быстрого определения сорта стекла.

В ГОИ в лаборатории академика С. И. Вавилова эта задача была разрешена при помощи люминесцентного анализа: Брумберг и Свердлов [97]

к исследуемым образцам в этом методе не предъявляется никаких требований в отношении формы, обработки поверхности, а также в значительной степени и размеров. Минимальная площадь участка образца, на котором авторам удавалось производить определение, составляла около 10 мм². Метод не требует применения сложной аппаратуры и позволяет производить определение, не разрушая образца и за чрезвычайно короткое время. Авторы оценивают точность метода в ~5% от определяемой величины.

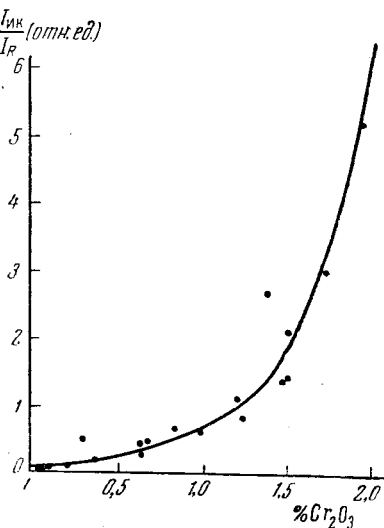


Рис. 69. Зависимость отношения $\frac{I_{\text{ИК}}}{I_R}$ от содержания хрома.

разработали метод, который позволил выяснить причину брака; после этого на соответствующем участке работы цеха был введен систематический контроль стекла при помощи сконструированного ими прибора. Брак был резко снижен. В описываемом методе люминесценцию возбуждают ультрафиолетовым светом, получаемым от высоковольтной искры между железными электродами. Большая часть энергии такого источника приходится на интервал длин волн 3000—2500 Å. Выделение этого участка спектра производится бесщелевым монохроматором, состоящим из кварцевых линзы и призмы.

Для целей анализа Брумберг и Свердлов использовали не только флуоресценцию, но и фосфоресценцию (послесвечение) сортируемого стекла. Последнюю они наблюдают при помощи сконструированного ими ф о с ф о р о с к о п а, позволяющего определить длительность послесвечения различных сортов стекла.

Таким образом, новым в этом методе является, во-первых, использование для наблюдения не только флуоресценции, но и фосфоресценции, и, во-вторых, возбуждение свечения более коротковолновым ультрафиолетовым светом с заменой светофильтра монохроматором.

Прибор — ф л у о р о ф о с ф о р о с к о п — оказался полезным и при разрешении многих других технических задач, например, для распознавания изделий из различных материалов и искусственных камней.

Другая практически важная задача, которую удалось разрешить в той же лаборатории, заключается в распознавании минерального состава наждаков и определении содержания в них нужного компонента — корунда. В этом случае анализ основан на наблюдении только флуоресценции; возбуждается же она, как и в методе сортировки стекла, искровым разрядом с использованием монохроматора. Наблюдения ведутся под люминесцентным микроскопом. Свечение корунда возбуждается светом с длинами волн в интервале 2000—3000 Å (рис. 70). Исследуемый наждак помещается на столик микроскопа на кварцевой пластинке. Осветительная оптика (конденсор) микроскопа сделана из кварца. Для устранения влияния ближнего ультрафиолетового света, возникающего из-за свечения линзы объектива, к последнему подклеивают стеклышко типа покровного, сделанное из стекла, окрашенного окисью хрома. Такое стекло бесцветно, но полностью поглощает ультрафиолетовые лучи. Содержание корунда в наждаке определяется подсчетом под люминесцентным микроскопом зерен корунда; в условиях опыта они ясно отличимы от прочих минеральных компонентов по яркой флуоресценции.

Люминесцентный метод использован для обнаружений дефектов стекла [98], он находит применение и в керамической промышленности, а равным образом и для целей отбора шлаков [99], пригодных для использования как материала для изделий, и т. д. В работе [100] предложен метод контроля табачной продукции: папиросы просматривают в ультрафиолетовом свете и по яркому голубому свечению отчетливо выявляют пятна смазочных масел на курке и мундштуке, если масло попало

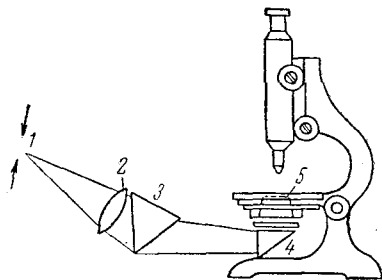


Рис. 70. Схема установки для исследования свечения наждаков. 1 — искра; 2 — кварцевая линза; 3 — кварцевая призма; 4 — кварцевая призма полного внутреннего отражения; 5 — кварцевый конденсор микроскопа.

в гильзовом цехе, а если в набивном, то только на курке; пятна экстрактивных веществ и эфирных масел из табака не люминесцируют.

В конце списка литературы к этой главе под номерами [101—110] приводим ряд сообщений, которые помогут практику полнее ориентироваться в круге вопросов, для разрешения которых стоит прибегать к люминесцентному анализу.

Л И Т Е Р А Т У Р А к г л. XIV

1. M. H a i t i n g e r, Die Fluoreszenzanalyse in Mikroshemie, Wien—Leipzig, 1938.
2. A. L i s s n e r, Zs. angew. Chem. 40, 745 (1933).
3. В. С. К р а с н о в а, Зав. лабор. 11, № 6, 561 (1945). Статья обзорного характера. ТЛСХО, 1505/41, 1942.
4. Giesserei 269, 1942; Chem. Abstr. 38, 2287 (1944). Люминесцентный анализ масел в связывающих веществах в формовочных материалах (в литейной практике).
5. Fr. C a r t l i n, Chem. Met. Engng. 50, 116 (1943); Chem. Abstr. 38, 661 (1944).
6. Engineering 154, 196 (1942); Foundry Trade J. 68, 40 (1942); Sheet Metal Industries (L), 16, № 186, 1557 (1942); Iron Age 150, № 22, 69 (1942).
7. Nature 151, № 3837, 555 (1943); Engineering 155, 357 (1943).
8. I. B r e n n a n, Metallurgia 30, № 176, 70 (1944).
9. Iron and Steel 18, 634 (1945); Brit. Engng. Exp. 28, № 1, 72 (1945); Metal Industry 67, № 6, 92 (1945); Engineer 179, № 4660, 355 (1945); Engineering 160, № 4151, 97 (1945).
10. W. S o m m e r, Electronic Engineering 18, № 226, 361 (1946).
11. Chem. Age 66, 899 (1952); Engineering 173, 724 (1952); British Plastics 25, № 281, 344 (1952); Automobile Engineer 42, № 555, 267 (1952); Product Engng. 23, 190 (1952); Machinery (L), 81, 74 (1952); Aircraft Production 14, 260 (1952); Light Metals 15, № 172, 234 (1952); Mechanical World 133, № 3403, 59 (1953); Welding and Metal Fabrication 21, № 4, 146 (1953); Metallurgia 41, 40 (1957).
12. Iron Age 150, № 25, 56 (1942); T. de F o r e s t, Metal Industry 62, № 15, 233 (1943); Trans. Amer. Soc. Metals 31, № 3, 739 (1943); Iron and Coal 146, 426 (1943); G. E l l i s, Steel 115, № 16, 100 (1944); C. E. B e t z, G. E l l i s, Metals Handbook ASM, p. 150, 1948; F. C a t l i n, Foundry 77, 168 (1949); R. C. M c M a s t e r, Mater. a. Math. 33, № 2, 81 (1955); I. E. C l a r k e, Non-Destr. Testing 12, № 4, 21 (1954); Machinery 61, № 9, 154 (1955).
13. G. W. B i r d s a l l, Steel 114, № 24, 94 (1944); Iron and Coal Trades Rev. 149, № 3994, 387 (1944).
14. F. W. R o h d e, Non-Destr. Testing 13, № 3, 27 (1955); Modern Metals 11, № 4, 42 (1955).
15. I. E. C l a r k e, Non-Destr. Testing 12, № 4, 21 (1954).
16. Non-Destr. Testing 11, № 7, 3 (1953).
17. F. M ü f f e l m a n n, W. S t i e d a, Luftwissen 11, № 8, 21 (1944).
18. K. S c h r a i v o g e l, G. A d l e r, Luftwissen 10, 285 (1943).
19. G. M a t t e, R. L a c h e n a u d, La Technique Moderne Aviation 4, № 8, 47 (1948); La Technique Moderne 41, № 13, 213 (1949); M. D é r i b é r é, Revue Generale de Mecanique 33, № 6, 251 (1949); Revue Metallurgie 47, 704 (1950); H. L e i r i s, Métaux et Corrosion Industries 26, 22 (1951); Revue de Metallurgie Fabrication 50, № 3, 159 (1953).
20. W. E. T h o m a s, Metals and Alloys 16, 886 (1948); J. Am. Soc. Naval Engineers 55, № 1, 169 (1943); Metallurgia 27, № 162, 229 (1943).
21. Metal Industry 81, № 24, 462 (1952); Iron and Steel 25, 258 (1952); Welding and Metal Fabrication 21, № 4, 146 (1953); Mechanical World 133, № 3403; 59 (1953).
22. S. A. W e n k, K. D. C o o l l y, R. K i m m e l, Non-Destr. Testing 11, № 1, 28 (1952)*.
23. W. W. D y r k a c z, L. B. F o n d a, Steel 116, № 7, 104 (1945).
24. E. V. B l a c k m u n, E. B r e m e r, Foundry 73, № 5, 96 (1945).
25. H. Z b i n d e n, Aluminium (B. R. D.) 32, № 9, 566 (1956).
26. N a s h L. M., Modern Metals 11, № 2, 44 (1955); V. I. Z a b e k, Ctnad. Metals, Nov-Annual Foundry Survey, 44, 46, 50, 52 (1956); B. C o r r a d a, Riv. ingegneria 4, № 5, 517 (1954).

*) В этом журнале часть т. 11 вышла в 1952 г. и часть в 1953 г. (ср. ссылки [16] и [22]).

27. C. D. H a v e n s, Southern Power and Industry 64, № 3, 77 (1946); G. T e n n e y, Non-Destr. Testing 11, № 6, 15 (1953).
28. W. G. H i t t, Non-Destr. Testing 8, № 1, 14 (1949).
29. Iron and Coal Trades Rev. 149, № 3, 994, 387 (1944); G. W. B i r d s a l l, Stell 114, № 24, 94 (1944); N. E. W a l t e r s, Mater. a. Meth. 36, № 5, 105 (1952); W. Y. M a l o n e y, Aeron. Eng. Rev. 15, № 4, 76 (1956); W. I. D e e k, J. R o y, Aeron. Soc. 60, № 551, 739 (1956).
30. W. B. B u c k m a n, Non-Destr. Testing 10, № 3, 11 (1952).
31. H. M i g e l, Power 89, № 5, 75 (1945); M. W. N e w m a n, Non-Destr. Testing 8, № 1, 9 (1949); G. C. V e r g u e, Non-Destr. Testing 8, № 1, 25 (1949).
32. R. H. S p a r l i n g, Non-Destr. Testing 12, № 5, 19 (1954); F. R. D r a h o s, Non-Destr. Testing 8, № 1, 33 (1949).
33. Modern Railroads 5, № 9, 79 (1950); Tonndry 79, № 2, 102 (1951); Non-Destr. Testing 10, № 1, 4; № 2, 5 (1951); J. B. S a i n e, Steel 138, № 4, 74 (1956).
34. A. S. P e d r i c k, Non-Destr. Testing 8, № 1, 19 (1949); 14, № 3, 10 (1956).
35. Д. С. Ш р а й б е р, Л. П. С п а с с к и й, Зав. лабор. 11, № 6, 570 (1945); В. И. Г о с т е в, «Технический контроль и борьба с браком в машиностроении», М., Машигиз, 1948; М. Я. Ф у к с, Зав. лабор. 15, № 3, 295 (1949); П. П. Б е р г, Проверка качества отливок, М., Машигиз, 1950; М. М. Л а у ш к и н а, Ф. К. Р о г о в, Изв. АН СССР, сер. физич. 13, 251 (1949); Г. И. П о г о д и н-А л е к с е в, С. Т. Н а з а р о в, М. И. Г а й ч е н к о, Методы испытаний сварных соединений и конструкций, М., Машигиз, 1952.
- 35а. П. К. М и х а й л о в а, Техинформация к-459/28, 1950; Ю. М. В и н о г р а д о в, ТЭХСО, № 1134/32, 1952; Я. И. К а г а н, В. М. А х т ы р с к и й, Зав. лабор. 20, № 3, 315 (1954).
36. А. И. К л и м о в, Б а с с, ТЭХСО, № 1219/50, 1948.
37. А. В. К а р я к и н, Л. С. Л а в р е н т ь е в, Зав. лабор. 17, № 5, 559 (1951). Информ.-техн. листок ЛДНТП, № 41/292 (1951); В. П. Т е х т, Зав. лабор. 17, 844 (1951); Г. С. К е й л и н, В. Л. Л о з о в с к и й, Мед. промышл. СССР, № 4, 34 (1951).
38. А. В. К а р я к и н, В. А. Н и к и т и н, Изв. АН СССР, сер. физ. 15, 767 (1951); Зав. лабор. 18, № 2, 192 (1952); А. В. К а р я к и н, Зав. лабор. 20, 317(1954); Информ.-техн. листок, ЛДНТП, № 17 (1956).
А. В. К а р я к и н, Люминесцентная дефектоскопия, Оборонгиз, 1959.
39. Э. В. П о л ь я к, Зав. лабор. 18, № 7, 858 (1952).
40. W. S t a u f f e r, A. K e l l e r, Schweiz. Arch. angew. Wiss. 18, № 5, 135 (1952).
41. Н. П. Ш е й н, Контроль качества и контрольная аппаратура, М., Оборонгиз, 1953.
42. Э. В. П о л ь я к, Зав. лабор. 20, 937 (1954).
43. H. N. S t a a t s, Non-Destr. Testing 10, № 3, 23 (1952); Non-Destr. Testing 11, № 3, 21 (1953).
44. Д. М. Ш а х т и н, Зав. лабор. 21, 1200 (1955).
45. H. T. D u p l i c e, R. C. A l e x a n d e r, Power, стр. 96, 1950; И. И. К в и р и н, Электрические станции, № 11, 62 (1950).
46. M. K r a h l, Kautschuk 3, 159 (1927).
47. Ф. Ф. К о ш е л е в, Общая технология резины, Госхимиздат, М., 1958.
48. V. N. M o r r i s, Ind. Eng. Chem. 26, 107 (1934).
49. М. Л. Б е р м а н, В. И. Р а ч к у л и к, Каучук и резина, 12, 33 (1957).
50. З. А. Б л и н о в а, В. Д. З а й ц е в а, В. Н. П р о в о р о в, Труды НИИР, 2-й сборник, 1959.
51. H. V a r r o n, Rubber Age XV, 8, 219 (1934).
52. В. С. Б у х а р е в, Бюллетень по обмену опытом в промышленности СК и синтетического спирта, № 3, 15 (1956).
53. R. D i t m a r u n d W. D i e t s c h, Gummi Ztg. 42, 1415 (1928).
54. P. G. N a g l e, J. Ry. Trans. 3, 304 (1927).
55. E. B e u t e l u n d A. K u t z e l n i g g, Wien. Monatshefte f. Chem. 61, 69 (1932).
56. F. K i r c h o f, Kautschuk 4, 24 (1928).
57. F. K i r c h o f, Kautschuk 3, 317 (1927).
58. E. A. H a u s e r, Kautschuk 8, 113 (1934).
59. G. B r u n i, Chem. Ztg. 55, 936 (1931).
60. S. O b e r t o, Rub. Chem. Techn. 11, 2, 311 (1938).
61. P. B o u r g e o i s, Rev. gen. Caoutchouc. 11, 3 (1934).
62. A. K a r s t e n, Kautschuk 11, 107—108 (1935).
63. М. Л. Б е р м а н, В. И. Р а ч к у л и к, Информационно-технический сборник. Мин-во электротехнической промышл., выпуск 10/94 (1956), стр. 25.
64. М. Л. Б е р м а н, В. И. Р а ч к у л и к, VI Совещание по люминесценции. Тезисы докладов, стр. 8, 1958.

65. А. С. Кузьминский, С. А. Рейтлингер, Е. В. Шемастина, ДАН СССР, ХСVIII, № 4 (1954).
66. Serger und G. Lüchow, Obst- und Gemüse-Verwertg. Ind. 21, 458 (1934); по P. W. Danckwortt und J. Eisenbrand, Lumineszenzanalyse im filtrierten ultravioletten Licht, 1956, 6-е изд., Leipzig, стр. 150.
67. И. И. Меньшиков, Труды Московского вечернего машиностроительного института, вып. 1, 212 (1953).
68. Б. А. Догадкин, ЖОХ, том XV, № 3, 177 (1945).
69. А. А. Прокофьев, Анализ каучуконосных растений, ч. 1, 69, 1936.
70. J. J. Fabian, Oel u. Kohle 39, 631 (1943); Ch. A. 38, 1625 (1944).
71. K. Pflaumer, Chem. Ber. Festschrift 586, 1942.
72. J. N. Mukherjee, C. V. E. a. M. K. Indra, Nature 154, 734 (1944); Д. М. Эфендиев, Изв. АН Аз. ССР, № 3, 17 (1952).
73. Veniamin, Ind. a. Eng. Chem. Anal. Ed. 16, 331 (1944); С. В. Гречешкин и М. В. Курлян, Ж. техн. физ. V, вып. 7, 1316 (1935); J. A. Schulliner, Anal. Chem. 23, 1676 (1951).
74. F. Evers, Oel, Kohle, Erdöl u. Teer. 11, 746 (1935); 12, 457 (1936). Oester. Ch. Ztg. 38, 197 (1935).
75. Аналитический контроль производства в азотной промышленности, вып. 1, ГХИ, М., 1956.
76. Инструкция по методике химического контроля качества воды и накипи на электростанциях, НКЭС, ГЭИ, М., 1944.
77. М. М. Юдильевич, Зав. лабор. 19, № 8, 948 (1953).
78. П. Н. Андреев, Энергетический бюллетень Министерства нефтяной промышленности, № 4 (1951).
79. Д. Я. Каган, Известия ВТИ, № 7 (1950).
80. М. М. Юдильевич, Информационное письмо № 2/28, ГЭИ, М.—Л., 1955.
81. G. S. Emmerson, Power. Eng. V, 57, № 12, 78 (1953). Каково содержание масла в ваших питательных водах?
82. Н. С. Литвинова, Наладочные и экспериментальные работы ОРГРЭС, вып. V, ГЭИ, 1952.
83. К. Е. Истомина, Труды Государственного научно-исследовательского и проектного института азотной промышленности, вып. VIII, ГХИ, М., 1957.
84. A. S. Thomson, A. W. Scott, A. M. Laird, Определение масла в питательной воде, The Steam Engineers V, XXII, 261 (1953); The shipping World, August, 170 (1950). Описание прибора для определения масла в воде.
85. М. М. Коростелева, С. И. Кричмар, Е. А. Копылова, А. К. Коротыч, Зав. лабор. 23, № 1, 30 (1957).
86. С. И. Кричмар, Зав. лабор. 23, № 3, 328 (1957).
87. Л. И. Казарновская, Д. П. Крафт, Зав. лабор. 20, № 1, 33 (1954).
88. H. J. Henk, Wollengewerbe 72, 831 (1940); Ch. Zbl. 1940, 11, 3130; Ch. A. 35, 23, 31 (1944); M. Haitinger, Fluoreszenzmikroskopie, 85 (1938); H. E. Mills, Text. Colorist. 54, 465, 503 (1943); Ch. A. 38, 1883 (1944). Описана флуоресценция покрашенных волокон; отмечается, что сухость материала — необходимое условие для флуоресценции. Nature 177, 470 (1956).
89. B. Bugui, Kolloid. Ztschr. 84, 74 (1938). Описаны цвет и флуоресценция для 40 красителей в адсорбированном, твердом и растворенном состояниях.
90. Ciba Dyeing Labor. Ciba Rev. 3, 1155—1156 (1940); Ch. A. 34, 4919 (1940).
91. J. Grant, Chem. a. Ind. (London) 56, 237 (1937); Text. Col. 62, 9 (1940); J. M. Preston, J. F. Su, J. Soc. Dyers Colourists 66, 357 (1950). Для изучения процессов крашения и выяснения структуры волокон рекомендуется использовать наблюдения поляризации окрашенных волокон (см. гл. XX, стр. 342).
92. М. Г. Качурин, Б. Я. Свешников, П. П. Дикун, Текстильная промышл., № 5, 33 (1950).
93. V. Gruenmann, Papier 42, 889 (1939).
94. M. de Bussar, Papeterie 65, 74 (1943); Ch. A. 38, 1110 (1944). Обсуждается цвет флуоресценции пульпы; применен пятый прием — покраска родамином 6 GB и бриллиантовым зеленым.
95. G. A. Schröter, Papier Fabr. Wochb. № 2, 50 (1943); Ch. A. 38, 2486 (1944).
96. П. П. Феофилов, Л. А. Кузнецова, Известия АН СССР, сер. физич. 18, 297 (1954); П. П. Феофилов, Бюллетень НИИ Часпрома, № 4 (61), 71, М. (1953).
97. Е. М. Брумберги З. М. Свердлов, Изв. АН СССР, сер. физич. 4, 75 (1940). Дано описание искрового флуороскопа и специального люминесцентного микроскопа. ОМТ, 1938, 10, 35-искровой флуорофоскоп.

98. М. А. Безбородов и Н. О. Абельчук, Зав. лабор. 8, 65 (1939).
99. Б. С. Шведов, М. А. Матвеев и В. П. Симонов, Керамика № 8, 5 (1939); P. W. Danckwortt und J. Eisenbrandt, Luminescenzanalyse im filtrierten ultravioletten Licht, 6-е изд., 1956, Leipzig.
100. Г. Л. Диккер, Табак, № 2, 56 (1951).
101. F. E. Germann u. J. W. Hensley, J. physic. Chem. 44, 1071 (1940). Количественный капиллярный люминесцентный анализ; E. A. Hauser u. C. J. Frosch, J. opt. Soc. America 27, 110 (1937); Ind. Eng. Ch. Anal. Ed. 8, 426 (1937). Наблюдения флуоресценции используют для изучения адсорбции и поверхностных явлений. J. A. Radley, J. Soc. Dyers. Colourists 52, 137 (1943); Ch. A. 38, 22 (1944). Дается классификация флуоресцентных веществ с точки зрения их применения. J. A. Radley, J. Soc. Dyers Colourists 60, 114 (1944); Ch. A. 38, 4451 (1944). Описание ламп и светофильтров, применяемых при практическом использовании люминесцентного анализа; подчеркивается необходимость в целях корреляции работ различных исследователей всегда указывать тип применяемых ламп и светофильтров.
102. P. Ellinger u. M. Holden, J. Soc. Chem. Ind. 63, 115 (1944); Ch. A. 38, 4482 (1944). Флуоресцентные измерения концентрации флуоресцирующих пигментов. S. J. Lewis, J. Soc. Chem. Ind. 63, 157 (1944); Ch. A. 38, 5149 (1944). Вещество освещают спектром и фотографируют возбуждаемую флуоресценцию; метод рассчитан на люминесцирующие порошки, бумаги, стекла, в особенности полезен при медицинских изысканиях. W. Ciusa, Chimica e industria 24, 233 (1942); Ch. A. 38, 2229 (1944). На основании проведенных измерений интенсивности флуоресценции (синего цвета) оливкового масла автор утверждает, что ее можно использовать для контроля качества масла. C. S. French a. W. O. Lundberg, Oil & Soap 21, 23 (1944); Ch. A. 38, 1131 (1944). Флуоресценция хлорофилла в жирах в связи с их прогорклостью. Определение прогорклости, основанное на наблюдении тушения свечения растворов хлорофилла при прибавлении жира, ненадежно, так как для данного процесса не удается установить стехиометрическое соотношение компонентов.
103. S. N. Sarkar, D. Z. Nandi, Current Sci. 20, № 9, 232 (1951). Быстрая флуоресцентная реакция обнаружения масла колючего мака в горчичном масле. M. Déribéré, Chim. peinture 5, 237 (1942); Ch. A. 38, 3550 (1944). Флуоресценция искусственных смол. J. W. McBain, C. J. Glassbrook, J. Am. Ch. Soc. 65, 1908 (1943); Ch. A. 38, 17 (1944). При сорбции и десорбции газов металлической поверхностью наблюдается свечение. W. V. Eisenberg u. K. L. Harris, J. Assoc. of Agr. Ch. 25, 772 (1942). Обнаружение уриновых пятен на мешках для сахара и иной пищи. R. A. McLean, M. L. Spreas, J. Amer. Water Works Assoc. 38, 355 (1946). Ch. A. 40, 4157 (1946). Флуоресценция питьевой воды доказывает ее загрязнение сточными водами.
104. В. Е. Синельников, НИИ эпидем., микробиологии и гигиены, Сборник трудов, вып. 3, 218, 1957, Фрунзе. Сопоставлены люминесц. свойства воды из разнохарактерных водоемов (в Киргизской ССР).
105. W. Witke, Mikroskopie 6, № 9—10, 316 (1951). Люминесцентная микроскопия в дубильном деле.
106. М. С. Бардинская, ДАН СССР 76, № 3, 435 (1951). «К вопросу об образовании лигнина в растениях»; С. М. Манская, М. С. Бардинская, М. Н. Кочнева, ДАН СССР 76, № 5, 707 (1951).
107. M. Déribéré, Les applications pratiques de la luminescence. Paris. Dunod, 1955, стр. 106. Для контроля рН фиксажа при проявлении в темноте рекомендован люминесцентный индикатор пиронин и для его возбуждения светосостав в запаянной ампуле, погружаемой в фиксаж.
108. Б. Я. Свешников, УФН 46, № 3, 331 (1952). «Тушение флуоресценции растворов посторонними веществами как метод исследования кинетики бимолекулярных реакций в растворе».
109. С. Р. Сергиенко, Ю. А. Бедов, Л. П. Тетерина, Изв. АН СССР, Отд. хим. наук, № 4, 716 (1954). «Применение цветной фотографии для фиксации картины люминесценции компонентов нефти и претерпеваемых ими изменений».
110. L. Petermann, Helv. Phys. Acta 24, № 6, 569 (1951). Использование фосфоресцирующих веществ для обнаружения ультразвука.

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ ПРИ ИССЛЕДОВАНИИ БОГАТСТВ НЕДР ЗЕМЛИ

1. Нефть и битумы

Исключительная чувствительность люминесцентного анализа и возможность применения его как экспресс-метода оказались весьма полезными при исследовании богатств недр земли и в первую очередь в исследовании залежей нефти. На первый взгляд как будто странно, что к нефти, добываемой в миллионах тонн, применяют метод, позволяющий обнаруживать сотые миллиграмма вещества. Но дело в том, что геолог-разведчик по битуминозности пород судит о направлении, в котором надлежит вести поиски нефти. Содержание битумов в породе ничтожно мало, число же образцов, анализируемых на содержание битума, должно быть колоссальным; только массовый характер анализов позволяет геологу разрешать стоящие перед ним задачи. Таким образом, специфические особенности люминесцентного анализа — чувствительность и быстрота выполнения — представляют именно те свойства, какими должны обладать методы исследования, пригодные для разрешения данной практической задачи.

У нас в Союзе работа в этом направлении началась незадолго до войны [4—7]. В настоящее время многие геологоразведочные лаборатории широко применяют люминесцентный метод анализа в своей повседневной практике, базируя ее на результатах параллельно проводимой исследовательской работы.

Следует отметить, что, несмотря на широкое применение люминесцентного анализа в нефтепоисковой работе, вопрос о том, какими именно компонентами обуславливается здесь люминесценция, находится еще в стадии выяснения. Только постепенно удастся переходить от сортового анализа, довольствующегося констатацией флуоресценции, к более надежному химическому флуоресцентному анализу.

Основными приемами люминесцентного анализа, какими пользуются при его применении в данной области, являются непосредственные наблюдения флуоресценции, а именно: наблюдения свечения битумов в породе или в растворе после извлечения из породы, наблюдения флуоресценции нафтеновых кислот в пластовых водах, а также наблюдения флуоресценции растворов нефти. Для химика-аналитика в каждом отдельном случае существенно знать, какими именно веществами обуславливается наблюдаемая им флуоресценция.

Нефти и битумы представляют собой многокомпонентные смеси углеводородов. Следовательно, цвет и интенсивность их флуоресценции не зависят от кислотности среды; равным образом влияние растворителя долж-

но быть минимальным. Впрочем, это утверждение отнюдь нельзя принимать безоговорочно; оно заведомо неверно, если флуоресценция нефти обуславливается примесями, принадлежащими к иным классам органических соединений, например нафтеновыми кислотами, порфиринами и т. д.

Наблюдаемая флуоресценция нефти или битума представляет суммарное свечение всех флуоресцирующих компонентов. Различие цвета флуоресценции обуславливается не только тем, что в состав отдельных нефтей и битумов могут входить разные компоненты, но и неодинаковым количественным соотношением компонентов, флуоресцирующих разным цветом. Цвет флуоресценции нефти или битума определяется флуоресценцией количественно преобладающего компонента только в том случае, если среди остальных компонентов нет таких, которые при одинаковой концентрации обладают значительно более яркой флуоресценцией или флуоресцируют светом, для которого чувствительность глаза много больше. Например, смесь из двух компонентов, обладающих флуоресценцией синего и зеленого цвета, может нам казаться флуоресцирующей синим светом только в том случае, если вещество с зеленым цветом свечения содержится в значительно меньшем количестве или обладает флуоресценцией существенно менее яркой; это обуславливается тем, что чувствительность человеческого глаза много больше в зеленой части спектра, чем в синей. Кроме того, на цвет свечения влияет присутствие компонентов, поглощающих в интервале длин волн, частично совпадающем со спектром люминесценции.

В состав различных сортов нефти входят преимущественно углеводороды следующих типов: 1) предельные парафиновые углеводороды, состав которых отвечает формуле C_nH_{2n+2} ; 2) нафтены, т. е. алициклические углеводороды предельного характера общей формулы C_nH_{2n} ; 3) ароматические углеводороды — бензол, его высшие гомологи и соединения с конденсированными ароматическими ядрами; 4) непредельные углеводороды ряда этилена с общей формулой C_nH_{2n} ; 5) более сложные высокомолекулярные углеводороды, представляющие, например, конденсированные алициклические системы.

Кроме того, нефть содержит небольшое количество соединений, в состав которых входят кислород, сера и азот.

Количественное соотношение представителей отдельных классов далеко не одинаково в нефтях различного происхождения. Как известно, главную составную часть американской пенсильванской нефти составляют предельные парафиновые углеводороды. Наши кавказские нефти отличаются высоким содержанием нафтенных: циклопентана, циклогексана и их многочисленных производных.

В некоторых нефтях содержание нафтенных достигает 80%. Содержание бензола и его производных в нефтях Баку оценивается приблизительно в 10% [8].

Из перечисленных углеводородов низшие члены в каждом из гомологических рядов не флуоресцируют или спектр их флуоресценции лежит в ультрафиолетовой части спектра (см. приложения I и II).

Способность флуоресцировать выражена очень слабо у предельных соединений — парафинов и нафтенных; наоборот, ароматические соединения с конденсированными ядрами принадлежат к группе веществ, для которых характерна способность флуоресцировать.

Фиолетова [9] (научно-исследовательская лаборатория Московского геологоразведочного треста), подбирая эталоны для количественных определений содержания битумов, наблюдала флуоресценцию хлороформных

растворов нефти разной концентрации. Для нефти второго Баку она установила, что концентрационное тушение начинается при концентрации $1,5 \cdot 10^{-4}$ г/мл, а для нефтей других месторождений с преобладающей масляной фракцией и для смолистых нефтей — при концентрации лишь немного большей, а именно $6 \cdot 10^{-4}$ г/мл. Эти интересные данные указывают, по-видимому, на то, что в рассматриваемых нефтях флуоресцирующие компоненты составляют существенную составную часть нефти, а не являются незначительной примесью.

В самом деле, если бы флуоресцирующие компоненты содержались в нефти в количествах порядка 1%, то при концентрации раствора нефти $1,5 \cdot 10^{-4}$ г/мл содержание в нем флуоресцирующих компонентов составляло бы $\frac{1,5 \cdot 10^{-4}}{100} = 1,5 \cdot 10^{-6}$ г/мл.

При столь низкой концентрации вряд ли могло наблюдаться концентрационное тушение и вряд ли могла оказаться концентрация $3 \cdot 10^{-4}$ г/мл оптимальной концентрацией нефти в растворе для наблюдения ее флуоресценции, как это нашла Фиолетова.

Не исключена, впрочем, возможность, что увеличение яркости обусловливается снижением концентрации какого-то тушащего компонента, который содержится в нефти.

Неоднократно высказывались предположения о возможности по флуоресценции устанавливать тип исследуемой нефти, а равным образом и битума. Фиолетова в результате сопоставления флуоресценции растворов нефтей пришла в отношении нафтеновых и парафиновых нефтей к обратному выводу. В свете всего ранее сказанного этот экспериментально установленный ею факт отнюдь не является неожиданным: разумеется, сходство суммарного свечения двух многокомпонентных систем не говорит об их идентичности; равным образом, не исключена возможность, что при тождестве главной нефлуоресцирующей массы углеводородов двух сортов нефти они, тем не менее, окажутся флуоресцирующими неодинаково вследствие присутствия в них примесей, светящихся по-разному. Таким образом, для идентификации нефтей по признаку их флуоресценции необходимо наблюдать такую не для нефти в целом, а для отдельных ее компонентов. Это легко сделать при применении капиллярного метода анализа, широко используемого в настоящее время при изучении минеральных масел и битумов. Его осуществляют путем погружения нижних концов подвешенных полосок из фильтровальной бумаги в хлороформенные или иные растворы интересующих веществ. Размер полосок около 0,5—1 см на 10—15 см. В зависимости от совокупности условий их оставляют висеть на ночь или на меньший период времени. На высушенных бумажках, при рассмотрении их в ультрафиолетовом свете, обнаруживаются характерные зоны неодинаковой ширины и с различным цветом флуоресценции; эти полосы обусловлены отдельными компонентами той сложной системы, какую представляет нефть. Метод применяется для изучения битумов. Пользуясь им, Фиолетовой удавалось подбирать подходящую нефть при изготовлении эталонных растворов для определения концентрации битумов.

В работах Каплан и Шкляр [10] это направление нашло свое дальнейшее развитие на более высоком физико-химическом уровне. Ими показана линейная зависимость между логарифмами концентрации и шириной капиллярной зоны для масляных фракций, а для смол, асфальтенов и высокомолекулярных масел — линейная зависимость между концентрацией и шириной зоны; выведены константы, характеризующие диффузионно-адсорбционные свойства фракций, показана связь их со средними молеку-

лярными весами и возможность быстрой оценки последних. На большом материале сопоставляются физико-химические и люминесцентные характеристики с групповым и фракционным составом различных нефтей. Метод работы, примененный указанными авторами, окажется, надо думать, весьма плодотворным.

Целесообразно применение и хроматографического метода, т. е. просасывание раствора нефти через колонку с адсорбентом. Кроппер и Стафорд, выделившие этим путем антрацен из смоляной фракции нефти, а также Кац и Сидоров пользовались в качестве адсорбента окисью алюминия [11], Андреев [12] — техническим силикагелем, Эфендиев [13] — гумбрином, окисью алюминия, силикагелем и др. Краснова [14], разработавшая люминесцентно-хроматографический метод анализа смазочных масел, рекомендует в качестве адсорбента углекислый кальций. Растворы готовились ею на толуоле, а не на хлороформе. Сказанное о люминесцентном методе изучения нефтей в полной мере относится, конечно, и к битумам (ср. гл. V, стр. 63).

До последнего времени спектры люминесценции растворов нефти или фракций нефти наблюдались и изучались при комнатной температуре и возбуждении неразложенным светом [15]. В работах последних лет начаты исследования спектров люминесценции узких фракций нефти, при возбуждении отдельными линиями ртутного спектра и с применением низких температур. В результате в спектрах выявились отдельные узкие полосы, позволившие обнаружить в спектре керосина полосы нафталина и его гомологов [16]. Ильиной у некоторых битуминозных веществ обнаружены спектры люминесценции с тремя максимумами, сходные со спектрами углеводорода перилена [17]. Меликадзе [18] удалось выделить из нефти ярко люминесцирующий кристаллический компонент — ароматический углеводород.

Как уже указывалось, у нас в Советском Союзе широко пользуются люминесцентным методом для обнаружения битумов в породах. Для этого или извлекают битум из породы, например путем взбалтывания с хлороформом навески породы порядка десятых долей грамма [2], или наносят на свежий разрез породы каплю хлороформа и изучают флуоресценцию образующегося при этом пятна [4]. По последней методике удается по фигуре и цвету образующегося светящегося пятна давать оценку, правда полуколичественную, содержания битума в породе. Так, сплошное светящееся пятно получается при сравнительно высоком содержании битумов — порядка процента; при очень малом их содержании, порядка тысячной процента, образуются отдельные светящиеся точки; при промежуточных концентрациях наблюдаются светящиеся кольца различного характера. Цвет флуоресценции может меняться в зависимости от природы битума; по этому признаку можно ориентировочно судить о составе битума. Для разных пород одна и та же форма пятна соответствует неодинаковому содержанию битума. Флоровская и Мелков [5] приводят концентрации битумов, соответствующие разной форме пятен, отдельно для плотных и рыхлых пород, для глин и мергелей, для песчаников, известняков и т. д.

Фиолетова комбинирует эту методику, позволяющую быстро отбирать нужные образцы, с последующим извлечением битума и более точным определением его содержания по интенсивности свечения полученных растворов. В некоторых случаях капля хлороформа светится только при условии, если на породу предварительно нанесена капля соляной кислоты (5%). Это указывает на то, что битум находится в связанном состоянии — битум С. Согласно данным Фиолетовой, следует различать

два типа битумов С. Для второго типа характерны интенсивная флуоресценция и наличие фосфоресценции в соответствующих породах. Для извлечения битума из этих пород недостаточно смачивания хлороформом и даже обработки соляной кислотой; битум извлекается только в аппарате Сокслета.

Для определения содержания битумов в породе сравнивают интенсивности свечения полученных растворов с заготовленной серией эталонов—растворов определенной концентрации. Как указывает Фиолетова, успех этого метода существенно зависит от правильного подбора эталона.

Для количественной оценки содержания компонентов битума в породе Краснова и Богословская [14] применили капиллярный метод; они измеряли ширину флуоресцирующих зон, наблюдаемых на полосах фильтровальной бумаги, после того как полосы были погружены одним концом в раствор битума. По их данным, имеется в достаточной мере постоянное соотношение между шириной зоны и содержанием битума. Приводим таблицу Красновой (табл. 38).

Т а б л и ц а 38

Ширина люминесцирующих зон, мм	Содержание битумов, %
8—10	$5 \cdot 10^{-3}$ — $1 \cdot 10^{-3}$
4—5	$5 \cdot 10^{-4}$ — $1 \cdot 10^{-5}$
3—2	$5 \cdot 10^{-6}$ — $1 \cdot 10^{-7}$
1—0,5	$1 \cdot 10^{-7}$ —следы

По данным Красновой, один лаборант за день может изготовить капиллярные образцы из 30—40 проб пород; пропускная способность одной люминесцентной установки для просмотра капиллярных проб — 150 — 200 штук в день.

Отметим, что люминесцентный метод определения битумов, даже если его применять с большой тщательностью и осторожностью, является типичным экспресс-методом; достаточно указать, что в лаборатории Московского геологоразведочного треста за 8 месяцев число анализов, проведенных двумя сотрудниками, превышало 1000, причем параллельно ими же велась исследовательская работа.

Вторая задача, разрешение которой ищут при помощи люминесцентного анализа,— это обнаружение нефтяных кислот в пластовых водах; присутствие нефтяных кислот, хотя бы в виде следов, доказывает близость нефтяных месторождений и указывает геологу направление, в котором надо вести поисковую работу.

Эта задача еще не может считаться разрешенной, соответствующая методика требует дальнейших уточнений в процессе исследовательской работы. Однако некоторые успехи здесь достигнуты [5, 9]; флуоресценцию хлороформенных вытяжек из вод сравнивают с флуоресценцией эталонов, приготовленных из мылонафта. Содержание нефтяных кислот, определяемое люминесцентным методом ($0,2 \text{ г/л}$), в основном соответствует данным химического анализа.

При поисковой работе на нефть нередко является необходимым в полевых условиях определять содержание битума в кернах. В этом случае наблюдают флуоресценцию в солнечном люминескопе, т. е. свечение возбуждается ультрафиолетовыми лучами солнца (ср. гл. I).

2. Угли и кокс

Для угольных бассейнов характерно наличие так называемых зон выветривания угольных пластов. Угли в зоне выветривания подвергаются изменениям, в результате которых их технологические свойства ухудшаются. В частности, для коксующихся углей наблюдается ухудшение (вплоть до полной потери) спекаемости. В связи с этим при разведках угля и подборе углей для коксования большое значение приобретают быстрые методы оценки физико-химических свойств угля, позволяющие отнести его к определенному классу и определить степень окисленности. Большинство применяемых для этой цели методов весьма трудоемки, требуют сложной аппаратуры и пригодны только в стационарных условиях; это привело к развитию работ по определению качества углей люминесцентными методами. Возможность использования их обусловлена здесь тем, что процесс окисления углей связан с изменением состава и свойств содержащихся в них веществ, в том числе и битумов. В зависимости от степени окисленности углей изменяется интенсивность и характер люминесценции растворов битумов, получаемых путем экстракции, причем эти изменения различны для разных типов углей.

В сообщениях, посвященных люминесценции битумов каменных углей, приводятся результаты практического применения люминесцентного анализа в этой области [19, 20]. Собиняковой [21] приведены данные о люминесценции хлороформенных вытяжек из углей, на основании которых автор делает вывод, что количество растворимых битумов, извлекаемых хлороформом, уменьшается при увеличении метаморфизма угля.

Дальнейшие работы [22] показали, что концентрация битумов в вытяжках из различно метаморфизированных углей изменяется; она максимальна у жирных углей. Исследования люминесценции битумных вытяжек производились как непосредственно в растворах бензола или смесях бензола и четыреххлористого углерода, так и капиллярным методом на полосках фильтровальной бумаги. На основании проделанной работы авторы считают возможным применение люминесцентного анализа для быстрого определения свойств ряда каменных углей. Отмечается, что люминесцентные методы исследования необходимо дополнять определением обычных петрографических признаков. При условии использования петрографических признаков и данных о цвете люминесценции битумов можно, по утверждению авторов, определять стадию метаморфизма, спекаемость и марку угля.

Работы по определению степени окисленности углей были продолжены Меньшиковым и Розмановой [23]. На основании измерений интенсивности люминесценции спиртовых и бензольных вытяжек из углей с разной степенью окисленности авторы считают возможным использовать люминесцентный метод для контроля процесса окисления углей в период хранения.

Собинякова [24] применила капиллярный люминесцентный метод (ср. гл. V, стр. 60) для определения степени метаморфизованности и окисленности углей. Проведенные наблюдения позволили установить следующие изменения экстрагируемых компонентов углей при изменении степени их метаморфизма и окисленности:

1. При увеличении степени метаморфизма углей увеличивается содержание битумов и наблюдается их утяжеление; верхняя зона на фильтровальной бумаге люминесцирует коричневым цветом, ширина ее увеличивается, а высота подъема снижается, усиливается потемнение цвета люми-

несценции до верхней полосы. У коксовых углей битумы наиболее утяжелены; высота подъема люминесцирующих компонентов наименьшая, наблюдается наиболее темный цвет люминесценции. С дальнейшим повышением карбонизации с переходом от коксовых к тощим углям молекулярные веса битумов уменьшаются. Цвет люминесцирующей верхней полосы изменяется от коричневого до оранжевого, а высота ее подъема возрастает.

2. В пределах углей одной марки блестящие типы содержат больше асфальтенов, чем полублестящие и матовые. Окраска верхней полосы приобретает оранжевый цвет.

3. При увеличении степени окисленности содержание асфальтенов в углях падает. У окисленных углей, дающих порошкообразный кокс, люминесцирует только верхняя полоса; цвет свечения — желтый. Угли, дающие спекающийся сплавленный кокс, обладают коричневой люминесценцией в верхней зоне и обнаруживают люминесценцию до верхней полосы.

Установленная люминесцентными наблюдениями зависимость спекающей способности углей от степени полимеризации битумов подтверждена автором испытаниями, проведенными параллельно с использованием других методов.

Люминесцентный анализ используется также для определения трещиноватости кокса. Наличие в коксе внутренних трещин ведет к снижению его механической прочности.

В связи с этим выявилась необходимость разработки специального метода обнаружения внутренних, скрытых трещин и микротрещин, незаметных при обычном визуальном осмотре кусков кокса. Такой метод был разработан в Институте горючих ископаемых АН СССР [25]; он сводится к следующему: высушенный кусок кокса погружают на 20—30 минут в концентрированный раствор антрацена, который через поры в коксе проникает внутрь и откладывается в скрытых трещинах. Пропитанный раствором кокс высушивается в течение нескольких часов. При наблюдении в ультрафиолетовом свете отдельностей, образующихся при разрушении целого куска кокса, ясно видны стенки трещин; можно зарисовать схему их расположения и определить, в какой мере они участвуют в разрушении кокса.

Поскольку антрацен откладывается и на наружных гранях куска кокса, их заштриховывают мелом, перед тем как разрушать кусок; флуоресценция наружных граней становится резко отличной от флуоресценции стенок трещин.

3. Минералы

Люминесцентный анализ находит применение и для обнаруживания месторождений многих минералов. Число минералов, обладающих способностью люминесцировать, огромно.

Богословский, Савицкая и Соломина [26], просмотревшие люминесценцию большого числа образцов пород, приходят к выводу, что среди люминесцирующих минералов много таких, которые по интенсивности и цвету свечения одинаковы, хотя химический состав их совершенно различен. С другой стороны, возможны и такие случаи, когда два образца одного и того же минерала, взятые из различных месторождений, сильно отличаются как по интенсивности, так и по цвету свечения.

Тем не менее при разрешении отдельных вопросов, возникающих перед геологами и минералогами, применение люминесцентного анализа

оказалось исключительно эффективным, и к нему прибегают не только в лабораторных условиях, но и на местах — при поисковой работе. Люминесценцию возбуждают для этого не только ближним ультрафиолетовым излучением, но и дальним, а также катодными и рентгеновскими лучами.

В указанной работе [26] авторы приводят многочисленные таблицы, в которых они суммируют результаты, полученные ими при наблюдении фото-, катодо- и рентгенолюминесценции большого числа минералов. В отношении каждого минерала указывается цвет и степень яркости люминесценции и приводится число образцов минерала, на которых проводились наблюдения; кроме того, отмечены те, правда, редкие, случаи, когда образцы одного и того же минерала обладали различными люминесцентными свойствами. Таблицы хорошо иллюстрируют сходство люминесценции у многих минералов. Сопоставляем в табл. 39 несколько цифр, полученных путем подсчета данных из таблиц Богословского, Савицкой и Соломиной. Из общего числа (свыше 300) обследованных ими минералов 148 не обладали ни фото-, ни катодо-, ни рентгенолюминесценцией. Свечение большинства фотолюминесцирующих минералов возбуждалось и катодными лучами, и, как видно из приводимого сопоставления, число катодолюминесцирующих минералов много больше числа фотолюминесцирующих; число рентгенолюминесцирующих — меньшее (34 минерала).

Эти данные позволяют предположить, что при исследовании люминесценции минералов с успехом может быть применено возбуждение катодными лучами (ср. гл. XI).

Таблица 39

Цвет люминесценции	Степень яркости люминесценции	Число минералов при возбуждении	
		ультрафиолетовым светом	катодными лучами
Красный, бордо, малиновый, рябиновый, розовый	Яркая	3	25
	Средняя	1	19
	Слабая	10	21
Желтый, коричневый, оранжевый, зеленый	Яркая	4	13
	Средняя	10	14
	Слабая	15	14
Голубой, фиолетовый, сиреневый, вишневый	Яркая	5	18
	Средняя	5	18
	Слабая	13	22
Итого		66	164

В некоторых случаях наблюдения люминесценции используют как метод не только качественного, но и количественного анализа. Так, для определения содержания шеелита как в рудах, так и в продуктах их обогащения подсчитывают число светящихся зерен шеелита среди сопутствующих минералов интересующей породы.

Богословский, Савицкая и Соломина в статье, посвященной описанию люминесценции минералов, отмечают, что «некоторые нелюминесцирующие минералы в дальнейшем, с увеличением числа наблюдений на:

новыми образцами, могут перейти в группу люминесцирующих» и что «люминесценция части молибденатов, змеевиков и некоторых других минералов объясняется только недостаточной свежестью образцов, наличием на них люминесцирующих вторичных продуктов окисления и гидратации», т. е., иными словами, наблюдаемая люминесценция минерала на самом деле представляет собой люминесценцию поверхностного слоя. Комовский [28] удачно использовал это обстоятельство и начал применять в отношении минералов второй прием люминесцентного анализа: он наблюдает люминесценцию не самого минерала, а того продукта, который из него получается в результате химической реакции, проводимой в поверхностном слое. Так, например, вольфрам в руде легко определить, если он в ней содержится в виде вольфрамата кальция (CaWO_4 — минерал шеелит); как выше указывалось, люминесценция этого минерала, возбуждаемая ультрафиолетовыми и катодными лучами, настолько интенсивна, что по яркому свечению голубого цвета легко в породе подсчитать зерна этого вольфрамата. Однако другие вольфраматы — вольфрамит $(\text{Fe}, \text{Mn})\text{WO}_4$ и гюбнерит MnWO_4 — представляют собой темные непрозрачные минералы, не обладающие способностью люминесцировать. Таким образом, в отношении их методы люминесцентного анализа непригодны. Между тем, как указывает Комовский, в Советском Союзе имеется много месторождений этих минералов, и представляет большой интерес «распространить на них экспрессную методику люминесцентного анализа».

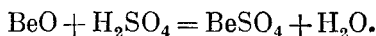
В отношении качественной методики задача эта уже была решена: при нагревании вольфрамита и гюбнерита с расплавленным хлористым кальцием поверхность минерала покрывается вольфраматом кальция, люминесцирующим голубым светом [27].

Для количественного определения метод был видоизменен так, чтобы образующийся люминесцирующий вольфрамат CaWO_4 отлагался пленкой только на зернах вольфрамсодержащих минералов и, таким образом, сохранялась возможность их подсчитывать [28].

За последнее время несколько видоизмененным методом решена аналогичная задача в отношении еще двух минералов — берилла и поллукита [29].

Берилл представляет собой алюмосиликат бериллия состава $3\text{BeO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 6\text{SiO}_2$. Он не люминесцирует или люминесцирует настолько слабо, что его нельзя обнаружить по этому признаку; силикат бериллия с поверхности переводят в сульфат, последний активируют и получают таким образом ярко люминесцирующий фосфор. Наилучшим активатором из числа пяти испробованных оказалась медь в виде сульфата.

Авторы считают, что реакция протекает согласно следующему уравнению:



Вероятно, одновременно и из окиси алюминия получается его сульфат. Для обработки минерала можно пользоваться в качестве реактива вместо серной кислоты 20%-ным раствором сульфата или бисульфата натрия. Согласно данным авторов, образующийся светосостав $(\text{BeSO}_4 \cdot \text{Cu})$ люминесцирует в катодной трубке ярким зеленым светом, резко выделяющим его на фоне сопутствующих пород. Для количественных определений авторы применяют ту же методику подсчета люминесцирующих зерен, какая описана выше для количественного определения вольфрамита; таким же способом они находят содержание берилла в пробе.

Комовский и Ложникова применили ту же самую методику получения искусственного фосфора на поверхности минерала и к поллудиту — минералу с химическим составом $(\text{Cs}, \text{Na})_2\text{O}, \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Реактивы для обработки и активатор здесь те же, что и в предыдущем случае.

Не входя за недостатком фактических данных в обсуждение степени достоверности и ценности описываемого метода, отметим новизну примененного приема: минерал переводят в люминесцирующий фосфор путем его активирования. До сих пор достигали такого превращения другим способом: сам минерал или продукты его расщепления применялись как активатор для соответственно подбираемого основного вещества. — растворителя. Этот последний метод весьма удобен, но только в тех случаях, когда в состав минерала входит элемент, обладающий типичной люминесценцией. Таковы редкоземельные элементы и уран, спектры свечения которых имеют дискретную структуру. Открытие в минералах урана и редкоземельных элементов методами люминесцентного анализа [30] представляется поэтому особенно соблазнительным. Работы эти подробно рассмотрены в первом разделе гл. XII.

Из минералов люминесценцией обладает и алмаз [31]. Люминесцентный метод оказался весьма эффективным при отборе алмазов от сопутствующих пород и при сортировке технических алмазов, имеющих широкое применение благодаря своим высоким абразивным качествам.

Люминесценция алмазов под действием ультрафиолетовых и рентгеновских лучей известна давно. Систематические ее исследования, в связи с другими свойствами алмазов, проводились Раманом с сотрудниками на образцах индийских месторождений [32]. Было установлено, что, несмотря на сильное различие в интенсивности и цвете люминесценции отдельных алмазов, в спектре излучения всех образцов обнаруживаются сходные свойства, а именно: имеется синяя линия с длиной волны 4152 Å и ряд полос, примыкающих к ней с длинноволновой стороны и находящихся на равных расстояниях друг от друга. В отдельных образцах имеется еще зеленая линия с длиной волны 5033 Å и также ряд прилегающих к ней с длинноволновой стороны равноотстоящих полос. Цвет люминесценции алмазов определяется соотношением интенсивностей этих двух систем (синей и зеленой), а также окраской образцов, зависящей, вероятно, от примесей; окраска вызывает частичное поглощение света люминесценции, что приводит к изменению наблюдаемого цвета свечения алмаза.

Характерность спектра люминесценции алмазов подтверждена на образцах других месторождений [33, 34]. По вопросу о природе характерной люминесценции алмазов существуют две точки зрения: одни считают, что люминесценция присуща самому алмазу [32—35], другие — что люминесценция вызывается примесями [36].

В алмазах наблюдается и послесвечение — синее, длящееся доли секунды, и более длительное — желтое.

В некоторых образцах алмазов наблюдается свечение с нехарактерным спектром и чрезвычайно большой длительностью, аналогичное свечению кристаллофосфоров [33, 37].

Люминесценция алмазов используется в алмазодобывающей промышленности для отбора их от сопутствующих минералов, входящих в алмазо-содержащий концентрат. При этом рентгеновское возбуждение представляется более рациональным, чем возбуждение ультрафиолетовыми лучами, так как основные сопутствующие породы под действием рентгеновских лучей совсем не люминесцируют, а под действием ультрафиолетовых многие люминесцируют, и интенсивность свечения некоторых из них

оказывается сравнимой с люминесценцией ярко светящихся алмазов (кварц, песчаник, известняк). Кроме того, при возбуждении свечения алмазов рентгеновскими лучами совершенно отсутствует рассеянный свет источника возбуждения и люминесценция окружающих предметов. Это дает возможность создать хорошую адаптацию глаза на темноту, необходимую для уверенного отбора слабо люминесцирующих образцов. Для возбуждения алмазов применяется рентгеновская трубка А-25, удобная в конструктивном отношении и выдерживающая длительную нагрузку.

Люминесценция алмазов при фотовозбуждении используется в абразивной промышленности [38]. На большом материале было установлено, что цвет свечения алмаза в ультрафиолетовом свете связан с его абразивной способностью. Кристаллы технического алмаза были рассортированы по признаку люминесценции на четыре группы: 1) нефлуоресцирующие; 2) флуоресцирующие желтым цветом (от желто-зеленого до желто-красноватого); 3) флуоресцирующие голубым цветом (от светлого до синего); 4) флуоресцирующие зонально различными цветами (сростки). Порошки, полученные из кристаллов этих групп, дали разный абразивный эффект. Порошки первой группы (нефлуоресцирующие) дали высокий абразивный эффект, второй и третьей (голубые и желтые) — значительно более низкий, четвертой (из сростков) — занимали среднее положение.

Успех в деле применения люминесцентного анализа в целях распознавания и количественного определения минералов существенно зависит от возможностей располагать в достаточной мере удобной аппаратурой. Это тем более справедливо в отношении разведки люминесцирующих полезных ископаемых с использованием катодлюминесценции. Этому кругу вопросов посвящена книга Комовского и Ложниковой [39].

В гл. VII и XI указаны некоторые сконструированные для этого и применяемые в СССР приборы.

ЛИТЕРАТУРА к гл. XV

1. Н. Шлезингер, Л. Новоженова, Бюл. Всесоюз. хим. о-ва им. Менделеева, № 4, 45 (1941).
2. А. П. Ларина, Г. К. Петухова, Л. В. Новоженова, Анализ нефтей, газов и битумов, 1942, Саратов (по [40], стр. 174, 178).
3. В. Н. Флоровская, ДАН СССР 31, № 4, 357 (1941).
4. В. Н. Флоровская, В. Мелков, Рукопись в фондах Татарского геолого-разведочного треста НКНП СССР, Чистополь, 1943 (по [40], стр. 178).
5. В. Н. Флоровская, В. Мелков, Введение в люминесцентную битуминологию, 1946.
6. В. Н. Флоровская, Краткое руководство по люминесцентно-битуминологическому анализу, Л.—М., Гостоптехиздат, 1949.
7. А. Ф. Фиолетова, Отчет по теме «Определение битуминозности пород методом люминесцентного анализа». В фондах Мосгеолтреста, М., 1944 (по [40], стр. 178, 179).
8. С. С. Наметкин, Нефтяное и сланцевое хозяйство, № 5—8, май—август. 3, 1921.
9. А. Ф. Фиолетова, Отчет по работе, Фонды НИЛ Мосгеолтреста, 1946 (по [40]); А. Ф. Фиолетова, Изв. АН СССР, сер. физич. 13, 254 (1949); В. Н. Флоровская, Люминесцентно-битуминологический метод в нефтяной геологии, Изд. Моск. ун-та, М., 1957.
10. И. В. Шкляр, З. Г. Каплан, Четвертый геохимический сборник, № 4, стр. 37; З. Г. Каплан, И. В. Шкляр, там же, стр. 51.
11. R. Storper, v. S. Stafford, J. Soc. Chem. Ind. 63, 268 (1944); Chem. Abstr. 38, 798 (1944); J. N. Mukherjee, C. V. E. a. M. R. I. Indira, Nature 154, 734 (1944). Различение масел хроматографическим методом; М. Л. Кац. Н. К. Сидоров, Изв. АН СССР, сер. физич. 15, № 6, 777 (1951).

12. П. Ф. Андреев, Труды второй научной сессии Дагестанской базы АН СССР, Махач-Кала, Изд-во Дагестанской базы АН СССР, 1949, стр. 380.
13. Ф. М. Эфендиев, Изв. АН Аз.ССР, № 3, 3, 17 (1952).
14. В. С. Краснова, Зав. лабор. 11, № 6, 561 (1945).
15. Ф. М. Эфендиев, Изв. АН СССР, сер. физич. 15, № 6, 782 (1951); Ф. М. Эфендиев, Х. И. Мамедов, Изв. АН Аз.ССР, № 1, 3 (1952).
16. Х. И. Мамедов, ЖЭТФ 26, 647 (1954); Материалы IV совещания по люминесценции. Люминесцентный анализ, стр. 47, Изд. АН Белорусск. ССР, 1956.
17. А. А. Ильина, Материалы IV совещания по люминесценции. Люминесцентный анализ, стр. 41, Изд. АН Белорусск. ССР, 1956.
18. Меликадзе, Т. А. Элиава, Труды ин-та химии АН Грузинской ССР 12, 73 (1956).
19. Н. М. Собинякова, Сообщение о научных работах Всесоюзного химического общества им. Д. И. Менделеева, вып. 4, 1949.
20. И. И. Аммосов, Н. И. Бабинкова, Сообщение о научных работах Всесоюзного общества им. Д. И. Менделеева, вып. 4, 1949.
21. Н. М. Собинякова, Труды ВИМС, № 1, (1949).
22. И. И. Аммосов, Н. И. Бабинкова, Изв. АН СССР, отд. техн. наук. № 3, 341 (1951).
23. Ф. С. Меньшиков, З. Е. Розманова, Зав. лабор., № 12 (1955).
24. Н. М. Собинякова, Материалы IV совещания по люминесценции. Люминесцентный анализ, стр. 54, Изд. АН Белорусск. ССР, Минск, 1956.
25. Б. А. Онусайтис, Н. П. Юрьевская, Зав. лабор., № 8, 955 (1949).
26. М. Г. Богословский, П. В. Савицкая, С. Г. Соломина, Советская геология 8, 99 (1938).
27. Н. В. Савицкая, Советская геология, том № 8 (1938).
28. Г. Комовский, С. Солодовник, О. Ложникова, Изв. АН СССР 9, № 4—5, 485 (1945).
29. Г. Комовский, О. Ложникова, Зав. лабор. 13, № 1, 48 (1947).
30. H. Haberlandt, Naturwiss. 27, 275 (1939); H. Haberlandt, B. Karlik, K. Przibram, Sitzb. Akad. Wiss. Wien, 11a, 143, 151 (1934); K. Przibram, Z. Phys. 107, 709 (1937); J. W. Vandergurt, Chem. Abstr. 40, 2767 (1946). Амер. работа — преимущественно о шеелите. Е. М. Бонштедт, Изв. АН СССР, сер. геологич., № 4, 188 (1939). Флуоресценция минералов из Хибин. M. Northeer, Rocks a. Minerals 15, 147 (1940). Флуоресценция апатитов.
31. P. G. Najar, Proc. Ind. Acad. Sci. 13A, 483 (1940); 14A, 1 (1941). Изучается абсорбция и люминесценция алмазов. Chem. Abstr. 36, 37 (1942); G. Chisleу, Amer. Mineral. 27, 20 (1942); Chem. Abstr. 36, 1568 (1942); J. M. Orr, J. de Ment. Mineralogist 10, 45, 64 (1942); Chem. Abstr. 36, 3429 (1942).
32. Symposium of papers on structure and properties of diamond, Proc. Ind. Acad. Sci. A19, № 5 (1944); A24, № 1 (1946); C. V. Raman, Curr. Sci. 19, 357 (1950); 20, 1, 27, 55 (1951).
33. З. Л. Моргенштерн, ЖЭТФ 21, 230 (1951).
34. П. О. Гомон, Опт. и спектр. 8, № 4, 521 (1960).
35. C. Bulla G. Garlick, Proc. Phys. Soc. A 63, 1283 (1950).
36. В. М. Vishui, Ind. J. Phys. 24, 441 (1950); 25, 575 (1951).
37. J. Custers, Physica 18, 489 (1952).
38. А. А. Гумилевский, Труды Федоровской научной сессии, 1951. «Исследование абразивных свойств технического алмаза, рассортированного на группы по цвету флуоресценции в ультрафиолетовом свете».
39. Г. Ф. Комовский, О. Н. Ложникова, Люминесцентный анализ при изучении руд и минералов, Госгеолтехиздат, М., 1954.
40. М. А. Константинов-Шлезингер, Люминесцентный анализ, Изд. АН СССР, М.—Л., 1948.

ГЛАВА XVI

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ*)

В биологии и медицине люминесцентный анализ начали применять с двадцатых годов текущего столетия. Как и во всех других областях науки и практики, метод оказался исключительно ценным и полезным в тех отдельных случаях, когда характер разрешаемых задач позволял использовать специфические преимущества люминесцентного анализа, в первую очередь его большую чувствительность. В настоящей главе рассматриваются описанные в литературе применения люминесцентного анализа в биологии и медицине. Сообщаемый фактический материал сгруппирован по признаку используемых приемов люминесцентного анализа, в предположении, что при таком расположении материала легче использовать опыт в той или иной области медицины специалистами в других ее областях. Сведения общего характера, необходимые для плодотворного применения люминесцентного анализа, приведены в первых семи главах книги. В гл. XII (стр. 199—210) рассматриваются работы, связанные с определением биологически важных веществ — порфиринов, витаминов, адреналина и т. д. Эти данные в равной мере относятся к настоящей главе: однако во избежание повторений мы сгруппировали их в одной XII главе, к ней и отсылаем читателя.

1. Применение люминесцентных веществ

Свечение флуоресцентных веществ отчетливо выявляется при чрезвычайно малых концентрациях. Это дает возможность использовать в медицине пятый прием люминесцентного анализа (см. гл. V, стр. 72), основанный на привнесении извне флуоресцентных веществ. Открывающиеся при этом возможности хорошо описывает Пикок в статье [1]. Автор в течение 18 лет применял флуоресцентные наблюдения и убедился в исключительной эффективности этого метода исследования. Пикок отмечает целесообразность использования описываемого метода для демонстрирования некоторых физиологических процессов перед студенческой аудиторией. Восторженно отзываясь о перспективах, какие открываются перед биологом и физиологом при применении флуоресцирующих веществ, он иллюстрирует их рядом примеров. Приводим почти дословный перевод выдержек из статьи Пикока. Говоря о возможности установления быстроты циркуляции крови при наблюдении перемещения в организме извне

*) Данная глава составлена М. Константиновой-Шлезингер на основании только литературных данных.

привнесенного люминесцентного вещества, Пикок пишет: «Я не знаю ничего столь поразительного, как наблюдение флуоресценции крови, собираемой по каплям из уха кролика во время впрыскивания ему коллоидальной суспензии бензопирена или антрацена в вену другого уха». Благодаря исключительной чувствительности этого метода удается показать, что «максимальная быстрота циркуляции крови много больше, чем это можно предполагать на основании опытов с впрыскиванием красок».

Быстрота, с которой флуоресцирующие частицы (например, бензпирен) исчезают из кровяного русла (в пределах 15 мин.), позволяет следить за удалением из него введенных углеводов и делает доступными наблюдения механизма выделения их печенью. Пикок отмечает, что соответствующие демонстрации, легко осуществимые и, вместе с тем, захватывающе интересные, с успехом могли бы быть использованы в качестве лекционных демонстраций при изучении физиологии печени. В опыте с бензпиреном можно сделать видимым его переход из коллоидального состояния в истинный раствор, а также дальнейшее его превращение в гидроксильное производное: цвет флуоресценции на отдельных стадиях процесса различен. Наблюдения процесса выделения флуоресцирующих веществ в желчь Пикок использует для демонстрации процессов секреции жидкости. Аналогичные опыты позволяли ему демонстрировать перистальтические волны, распространяющиеся вдоль кишок, а равным образом передвижение содержимого в них. Пикок останавливается на наблюдении, сделанном им на мышах после принятия ими флуоресцирующей пищи (очевидно, подкрашенной флуоресцентным красителем). В *ex situ* таких мышей он наблюдал ясную границу, делящую орган по оси на две половины; флуоресцировала только одна из них.

Пикок использовал наблюдения флуоресценции для выяснения путей удаления веществ из кровяного русла. Для этого он внутривенно впрыскивал флуоресцеин мышам, которых затем по истечении часа и более умерщвлял. Эти опыты показали, пишет Пикок, что и печень, и почки выделяют флуоресцентный краситель, однако флуоресцеин, выделяемый печенью, с желчью попадает в кишечник, отсюда быстро реабсорбируется и снова попадает в кровь. Поэтому в конечном счете флуоресцеин удаляется из крови путем выделения его почками.

Введение в организм флуоресцентных веществ нашло в настоящее время применение в клинической практике. Инъекция флуоресцентных красителей использована для изучения циркуляции крови [2, 3, 4]: определяют время после впрыскивания (например, флуоресцеина), по истечении которого под ультрафиолетовыми лучами обнаруживается зеленоватая флуоресценция губ, век или других участков поверхности тела [2]. В сороковых годах этот же прием начали использовать в хирургии, в частности при пересадках кожных лоскутов; появление флуоресценции у пересаженной кожи после введения больному флуоресцеина доказывает, что между телом больного и пересаженной кожей установилось кровообращение [5]. Яблонский [6] считает, что введение в кровяное русло флуоресцеина (флуоресцеиновая проба) позволяет в ранние сроки после операции выявлять нарушения кровообращения в кожных лоскутах, а это дает возможность предотвращать некроз лоскутов в местах с нарушенным питанием. Богданова [7] применила внутрикожное введение 0,2 мл раствора уранина (натриевой соли флуоресцеина) для исследования проницаемости капилляров кожи. Флуоресцеиновая проба была поставлена у 120 больных различными дерматозами; обследования проводились до, во время и после лечения. В результате установлено, что длительность

флуоресценции кожи колеблется в пределах от 102 минут (у здоровых) до 24 минут (у больных отеком).

В [8] описано внутривенное введение флуоресцеина *) при операциях желчного пузыря и желчных протоков. Авторы предварительно исследовали, как быстро после введения флуоресцеина изменяется его содержание в крови, желчи и моче, и пришли к выводу, что через 4—5 часов после введения флуоресцеина желчь содержит значительное количество красителя; в работе указывается, что в ультрафиолетовом свете внешние печеночные протоки всего лучше видны именно через такие промежутки времени. На основании опыта проведенных операций авторы считают, что при закупорках внешне-печеночных протоков желчи польза от применения флуоресцеина при операциях лишь ограниченная.

За последние годы обнаружено селективное накопление в опухолях таких люминесцентных веществ, как порфирины, акридиновый оранжевый, акрихин, флуоресцеин (натриевая соль). Установлено, что после одноразового внутривенного введения флуоресцеина у здорового человека краситель выделяется полностью за 50—70 часов, у больного злокачественной опухолью флуоресценция обнаруживается еще и через 2000 часов; это время значительно сокращается, если применять вместо флуоресцеина акрихин [9].

Накопление в злокачественных опухолях вводимых флуоресцентных веществ пытаются использовать для целей диагностики. В Институте грудной хирургии Академии медицинских наук больные раком легкого принимали флуоресцеин (1 г в щелочном растворе) за 3,5—4 часа до операции; благодаря этому на операционном столе при освещении ультрафиолетовыми лучами у оперируемого выявлялась граница между светящейся пораженной тканью и здоровой частью легкого: непораженные опухолью ткани флуоресцировали серовато-голубым светом, а раковые опухоли — желтовато-коричневым [10]. При операции требуется большая освещенность оперируемого органа ультрафиолетовым светом. Карякиным совместно с Пентюриным разработан необходимый для этого осветитель (см. гл. VII, стр. 116).

Люминесцентно-флуоресцеиновый метод детально разработан и с успехом применяется в нейрохирургии [11]. Метод позволяет определять границы злокачественной опухоли в мозгу и контролировать радикальность ее удаления. Специальные исследования посвящены изучению флуоресцентных красителей (флуорохромов), пригодных для диагностики опухолей центральной нервной системы [12].

При операции гортани применено внутривенное введение раствора риванола **) для усиления контраста в цвете люминесценции между злокачественной опухолью и здоровой тканью [13].

Флуоресцентные красители — флуорохромы — находят широкое применение при использовании наблюдений под микроскопом для диагностических целей.

Разработаны люминесцентно-гистологические методы диагностики рака глотки и гортани [14], а также женских половых органов [15] — см. главу XVIII, посвященную люминесцентной микроскопии в биологии и медицине.

*) Использовались продажные ампулы со стерильным раствором флуоресцеина в двууглекислой соде.

**) Риванол, как известно, относится к числу ярко флуоресцирующих веществ.

Со времени первых опытов по применению в медицине рассматриваемого приема люминесцентного анализа прошло не более 20 лет; надо думать, что в дальнейшем будут найдены новые возможности его использования.

2. Наблюдение собственной (первичной) люминесценции *)

Непосредственное наблюдение глазом люминесценции интересующего объекта — наиболее простой и легко осуществимый прием люминесцентного анализа. Еще в тридцатых годах текущего столетия было обращено внимание на целесообразность использования этого метода для диагностики кожных заболеваний **). Отмечалось, что по люминесценции обнаруживаются поражения кожи, неуловимые в видимом свете, причем эти невидимые поражения предшествуют и переживают видимые; указывалось, что экзема, пигментация кожи, эритема по люминесценции выявляются до того, как они становятся заметными в видимом свете. Тогда же было показано, что наблюдения люминесценции позволяют обнаруживать грибковые заболевания волос [16]. В настоящее время можно констатировать, что всецело оправдался и бесспорно ценен люминесцентный метод диагностики микроспории; это грибковое заболевание выявляется по зеленому свечению волос. Как указывает Розенталь [17], люминесценция обуславливается флуоресцирующими веществами, образующимися из волос под влиянием ферментативной деятельности грибков. Выявление детей, больных микроспорией, представляет одну из главных мер профилактики в борьбе с заболеванием. Упрощенная переносная камера, снабженная светофильтром, не пропускающим видимый свет, позволяет осуществлять массовое обследование детей, а также и переносчиков заболеваний — животных (кошек). В статье Ефимова и Дьяченко [18] описан опыт обследования детских коллективов с использованием такой камеры. Розенталь подчеркивает необходимость иметь в запасе несколько чехлов (стенок камеры), так как после каждого массового обследования чехол следует дезинфицировать. Несмотря на характерность люминесценции волос у больных микроспорией, возможны случаи, когда люминесценция чешуек не связана с грибковым заболеванием; Розенталь считает, что во всех спорных случаях следует прибегать к микроскопическим исследованиям, так как только обнаружение грибков под микроскопом делает диагноз бесспорным.

Для распознавания трихофитии люминесцентный метод непригоден [17, 19].

По данным Михайлова и Сваричевского [20], можно диагностировать желтуху (до ее обнаружения в обычных условиях) путем наблюдения люминесценции кожи и слизистых оболочек полости рта; желчные пигменты обнаруживаются по темно-бурым пятнам с коричневым оттенком, появляющимся при освещении полости рта ультрафиолетовым светом.

Василовым [21] установлена люминесценция тканей здорового зуба и ее отсутствие на участках, пораженных, кариозом, — диагностический признак, полезный при лечении зубов.

*) См. гл. V, стр. 60.

***) Рекомендуем вниманию читателя статью С. И. Вавилова и Б. Я. Свешникова «Люминесцентный анализ в медицине». Собрание сочинений С. И. Вавилова, т. IV, изд. АН СССР, Москва, 1956 г., стр. 388; Новости медицины (информационный материал), т. 11, Медгиз, стр. 3—17, 1940 г.

Много внимания уделяется использованию наблюдений собственной люминесценции, как диагностического признака раковых заболеваний. Так, ряд авторов наблюдали у больных злокачественными опухолями флуоресценцию пораженных тканей, мочи и крови, отличающуюся большей яркостью и цветом свечения по сравнению со здоровыми людьми. По Роффо [22], свечение пораженной кожи позволяет проводить раннюю диагностику предраковых состояний. Ферруфино [23] полагает, что этим путем обнаруживается предрасполагающее к раку повышенное содержание холестерина в кожных инфильтратах. В книге Гладкова [13] подробно рассмотрены возможности использования наблюдения люминесценции опухолей для контроля правильности их удаления в ранних стадиях рака гортани. Как диагностический признак рака описана более яркая флуоресценция мочи больных [24], флуоресценция красного цвета генеталий женщины [25], [26] кожи и т. д.. Следует подчеркнуть, что данные отдельных авторов нередко находятся между собой в противоречии. Например, Розенталь [17] указывает, что практическая ценность желтого свечения при кожных поражениях, о котором писал Роффо, не подтвердилась, не оправдались и другие диагностические признаки. Такое расхождение наблюдений отдельных авторов понятно, если учесть, что в указанных методах диагностики довольствуются констатацией различия флуоресценции тканей или биологических жидкостей у больных раком по сравнению со здоровыми; факторы же, обуславливающие это различие, остаются невыясненными. Иными словами, «сортовой (групповой) анализ» здесь еще не перерос в химический и использование рекомендуемых диагностических люминесцентных признаков требует большой осторожности. Потребуется много труда для того, чтобы выяснить, какими отклонениями в процессах метаболизма обуславливается появление той или иной флуоресценции, используемой как диагностический признак.

Исследования по проверке описанных методов диагностики злокачественных опухолей [27] и по изысканию новых люминесцентных методов [28] усиленно продолжаются.

3. Химический люминесцентный анализ*)

Этот вид анализа позволяет обнаруживать и определять содержание ничтожно малых количеств вещества, порядка долей гаммы. Методы анализа при тщательной отработке носят во многих случаях характер экспрессных. В отношении некоторых веществ оказывается возможным определять их содержание в присутствии других компонентов без предварительного выделения в индивидуальном состоянии. Как правило, для анализов можно довольствоваться ничтожно малыми количествами биологического сырья. Эти особенности химического люминесцентного анализа делают его специфически удобным при решении задач, стоящих перед биологом и медиком. Методами химического люминесцентного анализа определяют следующие группы биологически важных веществ: порфирины, витамины (B_1 , B_2 и другие), некоторые антибиотики, эстрогенные вещества, адреналин, ряд лекарственных веществ и т. д. Самые методы анализа и соответствующая литература приведены в гл. XII, Б. Здесь мы остановимся только на простейшей форме люминесцентного химического анализа, не требующего проведения химических реакций и сводящегося в основном к наблюдению люминесценции искомого вещества. Как уже указывалось

*) См. гл. XII, стр. 158.

в гл. XII, констатация присутствия того или иного вещества на основании люминесценции исследуемой биологической жидкости требует большой осторожности.

Для иллюстрации этого положения остановимся на работе [29], в которой на основании свечения мочи маток лошадей была установлена повышенная концентрация в ней фолликулина. Содержание гормона в моче возрастает, как известно, в предродовой период, и ставился вопрос о возможности по люминесценции диагностировать жеребость. Сравнивалась люминесценция мочи маток лошадей на различных стадиях жеребости. Цвет флуоресценции мочи у жеребых и нежеребых маток оказался

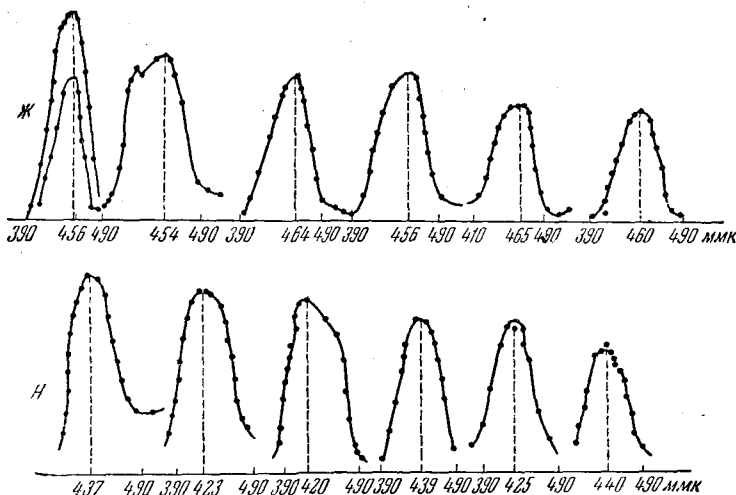


Рис. 71. Микрофотограммы спектров флуоресценции растворов Ж и Н.

различным. Вследствие исключительной чувствительности люминесцентного метода возможно искажение результатов под влиянием незначительных внешних факторов, поэтому было проведено большое число дополнительных опытов и в результате установлено, что: 1) исследуемые пробы обязательно должны быть свежими; 2) кратковременным освещением проб ультрафиолетовым светом можно увеличить контраст между цветом флуоресценции раствора Ж (жеребых маток) и Н (нежеребых маток); 3) при облучении растворов существенно, чтобы они при этом не нагревались; 4) желательно проводить наблюдения на пробах Ж и Н, предварительно отстоявшихся; 5) следует наблюдать флуоресценцию сильно разбавленных щелочных растворов.

На рис. 71 даны кривые почернения, полученные фотометрированием негативов спектров флуоресценции растворов мочи жеребых (Ж) и нежеребых (Н) маток; они дают нам представление о распределении интенсивностей в соответствующих спектрах флуоресценции. Сопоставление этих кривых показывает следующее: для всех кривых Ж максимум почернения на негативе, а следовательно, и максимум интенсивности флуоресценции отвечает длине волн, лежащим в интервале от 456 до 465 мμ, т. е. колеблется в пределах 9 мμ. На кривых же Н максимум смещен в сторону коротких волн, и, кроме того, длины волн, отвечающие максимуму, колеблются в более широком интервале от 426 до 440 мμ. Ясно выявляется сходство

всех кривых флуоресценции растворов *H*, с одной стороны, и растворов *Ж*, с другой. Эти данные приводят к выводу, что в растворах *Ж* имеется флуоресцирующее вещество, максимум флуоресценции которого лежит около 460 мкм, и что именно присутствием этого вещества обуславливается различие флуоресценции растворов *Ж* и *H*. На рис. 72 сопоставлены кривые, полученные путем фотометрирования на спектрофотометре Кониг-Мартенса флуоресценции трех растворов: фолликулина, *Ж* и *H*. Как видим, кривые сходны только для первых двух растворов.

Таким образом по флуоресценции растворов мочи лошади можно устанавливать повышенное содержание в ней фолликулина; следует, однако, отметить, что в связи с малой характерностью наблюдаемой люми-

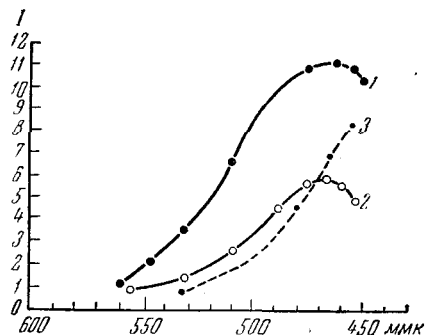


Рис. 72. Кривые, полученные визуальным фотометрированием флуоресценции растворов:

1 — раствор фолликулина; 2 — раствор *Ж*; 3 — раствор *H*.

несценции все же нельзя, вероятно, считать полностью исключенной возможность ошибки вследствие случайных приводящих моментов.

Химический люминесцентный анализ в описанной упрощенной форме наиболее пригоден в применении к порфиринам, веществам, обладающим люминесценцией красного цвета (ср. гл. XII, стр. 207) со спектрами свечения, состоящими из отдельных полос. Для каждого из порфиринов характерна своя система полос (стр. 367), и поэтому спектрографические исследования полос позволяют идентифицировать отдельные порфирины.

Люминесценция порфиринов использована Клювером в его исследованиях, посвященных изучению нахождения порфиринов в организме [30] *).

Люминесценция красного цвета была им обнаружена у разнообразных представителей млекопитающих и птиц, но отсутствовала у амфибий и рептилий, а также у животных в момент рождения. Свечение наблюдалось как у живых животных, так и у убитых.

Клювером были детально исследованы порфирины центральной нервной системы. По данным Клювера, спектры люминесценции белого вещества центральной нервной системы обнаруживают ясную полосу эмиссии при 620—630 мкм. Путем экстрагирования им был выделен из белого вещества мозга порфирин; и по спектру люминесценции, и по его свойствам он оказался идентичным с копропорфирином. Среди других доводов Клювер приводит и такое экспериментальное доказательство идентичности изучаемого вещества с копропорфирином: он наблюдал его спектр люминесценции при температуре жидкого воздуха и обнаружил смещение полосы на 60 Å, описанное как характерное для копропорфирина. Содержит ли белое вещество мозга копропорфирин I или III, оставалось невыясненным.

На основе проведенной работы и данных литературы Клювер высказывает гипотезу, что «некоторые нервные и психические расстройства связаны с «cerebral porphyrea», с нарушением метаболизма некоторых пиррольных производных» (pyrrol compounds).

*) См. также [5] дополнительного списка литературы.

Еще в тридцатых годах люминесценция порфиринов была использована в некоторых патологических случаях, при которых наблюдалось отклонение от нормального содержания порфиринов в биологических средах. Указывалось, что, по-видимому, только в патологических случаях порфирины могут содержаться в плазме, у здорового же человека они полностью выводятся с мочой.

Определение концентрации порфиринов в моче осуществляется методами люминесцентного анализа.

В гл. XII описан метод Финка, использованный в клинических условиях. Здесь мы остановимся только на работах по разрешению актуальной задачи диагноза отравлений свинцом по повышенному выделению порфиринов с мочой [31, 32]. Самая возможность использования такого диагностического признака показана еще в тридцатых годах [33]. За последнее время метод усовершенствован. Так, для извлечения порфиринов из эфирного экстракта было рекомендовано [34] применять не соляную кислоту, а 10%-ную серную; раствор люминесцирует благодаря этому ярче (ионы хлора тушат люминесценцию), и, кроме того, в сернокислый раствор переходит меньше примесей.

В другой работе [35] применено хроматографирование на бумаге для изучения выделения порфиринов с мочой кроликов, которым внутривенно вводили хлористый свинец. Выяснено, что преимущественно выделяется копропорфирин, что при стоянии вытяжки люминесценция усиливается и что лечение фолиевой кислотой не сказывается на выделении порфиринов.

Определению порфиринов в моче посвящены также работы [36—38].

Рассмотренный пример хорошо иллюстрирует преимущества химического люминесцентного анализа и целесообразность его применения при решении некоторых вопросов, возникающих в медицине. Из раздела Б гл. XII читатель усмотрит, к каким из веществ, представляющих интерес для медика и биохимика, удобно применять методы люминесцентного анализа. Там же указаны и методы их определения.

Отсылая читателя к главе XII, мы здесь во избежание повторений не конкретизировали отдельные случаи, а только попытаемся наметить некоторые из задач медицины, для выяснения которых используют химический люминесцентный анализ:

1. Исследование порфиринов при заболевании порфирурией при отравлении сульфанолам и свинцом и при некоторых других заболеваниях (гепатит, пернициозная анемия и др.).

2. Определение содержания эстрогенных веществ в моче.

3. Определение витаминов при витаминотерапии, при выяснении роли витаминов в обмене веществ.

4. Определение содержания адреналина в крови в нормальных и патологических условиях.

5. Исследование процессов выделения организмом некоторых антибиотиков. Контроль выделения лечебных препаратов из организма, например, стильбамидина при лечении больных лейшманиозом.

6. Наблюдение кумулятивного действия лечебных препаратов (например, хинина); исследование претерпеваемых ими в организме изменений и мест локализации в тканях.

В дополнительном списке литературы приведены работы по разрешению задач медицины и биологии, на которых мы не останавливались в тексте, например метод определения дозы рентгеновских лучей, при-

ходящейся при облучении на внутренние органы [1], метод обнаружения в поврежденном глазе частиц алюминия и его сплавов [2] и т. д.

Бесспорно, что использованы еще далеко не все возможности люминесцентного анализа, и для их выявления необходимы дальнейшие исследования.

ЛИТЕРАТУРА к гл. XVI

1. P. R. Rea sock, *Nature* 153, 136 (1944). Флуоресценция в помощь физиологии. (Приведена литература — ссылки на специальные журналы.)
2. E. K o s c h, *Deutsch. Arch. Klin. Med.* 140, 39 (1922); K. L a n g e, L. J. B o y d, *Med. Clinics of N. America*, стр. 943 (1942); J. H e r r l i n, S. Th. G l a s s e r, K. L a n g e, *Arch. Surg.* 45, 785 (1942) (по книге П. П р и н г с х е й м и М. Ф о г е л ь, Люминесценция жидких и твердых тел, стр. 182, ИЛ, 1948, Москва).
3. E. F a h r, *Virchows Arch. pathol. Anat. u. Physiol.* 314, 499 (1947); P. B o q u e t, A. D e l a u n a y, J. L e b r u n, V. L e b o u l l, C. R. S e a n c e s, *Soc. Biol. Filiales* 141, 272 (1947). Определение времени циркуляции при экспериментальной интоксикации (по книге: P. W. D a n s k w o r t t u. J. E i s e n b r a n d t, *Luimeszenanalyse im filtrierten u.v. Licht*, 1956, Leipzig, 160, 265.)
4. J. M. P o t t e r, D. A. M e D o n a l d, *Nature* 166, 596 (1950). Кинематографическая запись быстроты тока артериальной крови (на кроликах).
5. *Science News Letters*, № 2, 216 (1943).
6. Г. А. Я б л о н с к и й, *Вестник хирургии им. И. И. Грекова* 72, № 4, 21 (1952).
7. В. С. Б о г д а н о в а, *Вестник венерологии и дерматологии*, № 2, март—апрель, 12 (1951).
8. G. I. M e n a k e r, M. L. P a r k e r, *Surgery* 27, № 1, 41 (1950).
9. H. G r a m m e r, W. S t i c h, A. T r e i b e, *Naturwiss.* 39, № 6, 137 (1952).
10. М. А. Г л а д к о в а, Е. С. Л у ш н и к о в и А. В. К а р я к и н, Доклад на VI конференции по люминесценции, Ленинград, февраль 1958.
11. Л. Я. Ш а р г о р о д с к и й, Г. М. Л о к т и о н о в, А. С. С р а ц и о н о в, *Вопр. нейрохирургии* 18, № 3, 14 (1954). Сообщ. I. «Люминесцентно-флуоресцентный метод в диагностике некоторых форм патологии центральной нервной системы» 19, № 1, 3 (1955). Сообщ. II. «Люминесцентно-флуоресцентный метод диагностики опухолей головного мозга в условиях эксперимента» 19, № 1, 36 (1955). Сообщ. III. «Люминесцентно-флуоресцентный метод диагностики воспалительных процессов головного мозга и его оболочки в условиях эксперимента».
12. G. E. M o o g e, S. W. H u n t e r, T. V. H u b b a r d, *Ann. Surg.* 130, 637 (1948). Клиническое и экспериментальное исследование флуоресцентных красителей с точки зрения их применения в диагностике опухолей центральной нервной системы.
13. А. Г л а д к о в, Люминесцентный анализ в медицине, Гос. изд. Молдавии, Кишинев, стр. 109, 1958.
14. А. В. Г у т к и н а, *Вестник оториноларингологии*, № 6 (1953).
15. Б. И. Ж е л е з н о в, *Акушерство и гинекология*, № 1, 43 (1956).
16. J. M a g a r o t, P. D e v e z e, *Hautkrankh.* 32, 205 (1930).
17. С. К. Р о з е н т а л ь, *Изв. АН СССР, сер. физич.* 15, № 6, 793 (1951); *Вестник венерологии и дерматологии*, № 1, 20 (1952).
18. М. А. Е ф и м о в, Л. А. Д ь я ч е н к о, *Вестн. венерол. и дерматол.*, № 4, 50 (1950).
19. А. М. А р н е в и ч, З. Г. С т е п а н и щ е в а, *Фельдшер и акушерка*, № 10, 38 (1952).
20. В. М и х а й л о в, В. С в а р и ч е в с к и й, *Вопросы педиатрии, охраны материнства и детства* 20, 49 (1952).
21. С. И. В а с и л о в, *Стоматология* 2, 12 (1957).
22. A. H. R o f f o, *J. Vol. inst. med. expt. stud. cancer* 20, 143 (1943); *Ch. A.* 38, 1276 (1944). Автор приходит к выводу, что по флуоресценции удобно обнаруживать канцерогенные вещества, однако флуоресценция не связана со способностью вызывать рак. A. H. R o f f o, *J. Vol. inst. med. expt. stud. cancer.* 20, 51—64 (1943); *Ch. A.* 33, 1275 (1944). Микрофлуоресценция кожных повреждений.
23. H. F. F e r r u f i n o, *J. Vol. inst. med. expt. stud. cancer* 20, 233 (1943); *Ch. A.* 38, 1276 (1944).
24. С. М. М е л к и х, *Изв. АН БССР*, № 2, 59 (1950); Л. У. Д а ш к е в и ч, *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины* 22, вып. 3, 11 (1946).
25. F. H. J. F i g g e, *Cancer Research* 4, 465 (1944); *Ch. A.* 39, 1457 (1945). Метаболизм порфиринов чувствителен к канцерогенным агентам. E. Y. J o n e s, F. H. J. F i g g e, J. M. H u n d l e y, *Cancer Research* 4, 472 (1944). Флуоресценция крас-

- ного цвета гениталий женщины. Там же, 4, 483, (1944). Извлеченное из гениталий вещество оказалось смесью порфиринов. R. N. Jones, C. D. May, Cancer Research 4, 304 (1944); Ch. A. 38, 4020 (1944). Флуоресцирующие концентраты из неомыляющейся фракции из печени.
26. Science News Letters 62, Dec., 406 (1952).
27. П. И. Мгалоблишвили, Сб. трудов науч.-исслед. кожно-венеролог. ин-та М-ва здравоохранения Грузии 6, 77 (1954). «К вопросу о диагностической ценности люминесцентного анализа при раке кожи». J. H. Hill, J. Natl. Cancer Inst. 18, 335 (1947). Флуоресценция мочи и диагноз рака. С. О. Лапина, Клиническая медицина, № 1, 118 (1957). О люминесценции мочи при раковых новообразованиях. W. H. Horschel, B. Krichewsky, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 75, 693 (1950). Люминесцирующая липидная фракция от животных, больных раком.
28. Н. И. Брауде, Бюлет. эксперим. биологии и медицины 22, вып. 28, 60 (1946). «Спектральный анализ ракового тушителя как метод расшифровки механизма тушения». Рассматривается тушение митогенетического излучения. З. В. Малеева и И. Д. Нечаева, Новости медицины, вып. 21, 41 (1951). Раковый тушитель как метод диагностики.
29. М. А. Константинов-Шлезингер, Труды Физ. ин-та АН СССР 2, вып. 2—3, 69 (1942).
30. H. Klüver, Science 99, № 2581, 482 (1944).
31. Я. Б. Резник, Г. М. Федоров, Врач. дело, № 10, 977 (1955). Методика определения порфиринов в моче и его диагностическое значение.
32. Г. Ф. Океева, Лабор. дело, вып. 4, 9 (1956).
33. K. Kranke, St. Litzner, Z. klin. Med. 129, 115 (1936); E. Roth, Z. klin. Med. 129, 123 (1936); P. W. Danckwortt, W. Gabel, Dtsch. Tierarztl. Wschr. 45, 605 (1937).
34. K. Weber, J. Ruzdic, Experimentia 7, № 9, 354 (1951).
35. M. Weatherall, A. Comfort, Nature 169, № 4301, 587 (1952).
36. R. Kehl, B. Gunther, Naturwiss. 41, 118 (1954). Порфирины из биологического материала количественно определялись с использованием бумажной хроматографии. «Пятна» выявлялись по их люминесценции.
37. R. Askevold, Scand. J. Clin. & Lab. Invest. 3, 318 (1950). Ходовой анализ порфиринов в моче.
38. L. M. Corwin, J. M. Orten, Anal. Chem. 26, 608 (1954). Упрощенный метод выделения порфиринов из мочи.
39. Литература к главе XII, Б, ссылки №№ 1 по 85.

Дополнительный список

1. W. Kossel, U. Mayer, H. C. Wolf, Naturwiss. 41, 209 (1954); H. Vager, J. Lehmann, U. Mayer, *ibid.* 41, 210. Описан метод определения дозы рентгеновского облучения, приходящейся на внутренние органы, по термолюминесценции фосфора CaSO_4Mn ; последний вводится с катетром в интересующую полость. По окончании облучения извлекают катетр и люминофор из него. Измеряют люминесцентное излучение (световую сумму), наблюдаемое при последующем нагревании фосфора: чем большая доза рентгеновских лучей на него попала, тем сильнее он высвечивается при нагревании. Описано применение метода в лечебной практике.
2. S. Mielke, Gräfers Arch. f. Ophthalm. 146, 510 (1943). Экспериментальное исследование к вопросу о повреждении глаза посторонним телом из алюминия и его сплавов. Включения обнаруживаются по зеленому свечению при мориновой пробе. (По книге Danckwortt, 1955.)
3. A. Giardini, H. Swanljung, Brit. J. Ophthalmol. 35, 114 (1951). Влияние недостатка кислорода (аноксия) на способность флуоресцеина проникать сквозь водокровяной барьер.
4. J. G. Kerejakes, W. H. Parr, A. T. Krebs, Archives of Biochem. a. Biophys. 58, № 2, 478 (1955). Наблюдалось снижение выхода люминесценции под влиянием облучения Co^{60} у растворов аминокислот и других биологически важных веществ.
5. H. Klüver, Biochem. of the Nervous System Proc. First Neurochem. Symposium. Oxford, 1954, 137 (1955). Порфирины в связи с развитием нервной системы.
6. R. C. Mellors, R. Silver, Science 114, № 2962, 356 (1951). Микрофлуорометрический просматривающий прибор для дифференциального обнаружения клеток в применении к цитологии.

7. Ю. М. Островский, Бюллетень экспериментальной биологии и медицины, XII, II, стр. 72, 1956. «Новые возможности изучения обмена тиамина». Простое определение тиамин в крови. Описание метода см. гл. XII, Б.
8. G. Hagerman, R. Hirschfeld, Acta Dermato-Venerol. 27, 369 (1947). Люминесцирующий красным светом налет на нормальном языке и его связь с метаболизмом витамина В.
9. С. К. Розенталь, Изв. АН СССР, сер. физич. 15, 793 (1951). По-видимому, порфирины полости рта являются продуктом жизнедеятельности бактерий и отсутствие оранжево-красной люминесценции вряд ли связано с дефицитом витаминов В группы.
10. С. К. Розенталь, Вопросы медицинской химии 1, 300 (1955). Люминесцентная методика определения уробилина в моче.
11. М. П. Болотов, Лабор. дело 5, 18 (1956). Определение уробилина и стеркобилина по флуоресценции с применением микроскопа.
12. W. H. Florshiem, B. Krichesky, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 75, 693 (1950). Люминесцирующая липоидная фракция от животных больных раком.
13. G. Lehman, H. F. Michaelis, Arbeitsphysiologie 12, 1, 52, 264, 440 (1942) (цит. по Розенталю, Природа № 2, 67 (1951)). Определение содержания адреналина в плазме крови по интенсивности ее флуоресценции.
14. М. С. Иоффе, Б. М. Эйдельштейн, Вопросы восст. хирург., травматол. и ортопед. III, 111 (1951), Свердловск. Флуоресцентная проба как метод определения кровоснабжения тканей при облитерирующей болезни сосудов.
15. V. W. Voik, H. Porrer, Gastroenterology 14, № 4, 549 (1950). Исследование при помощи люминесцентного микроскопа влияния степени дисперсности витамина А и жиров на процесс их всасывания.
16. Л. Б. Берман, В. Н. Шалумович, ДАН СССР 103, № 1 (1955). Исследование кожи лягушки и специально ее желез при помощи люминесцентной и ультрафиолетовой микроскопии.
17. В. Н. Шалумович, ДАН СССР 105, № 3, 584 (1955). Изучение структуры желточной оболочки куриного яйца при помощи люминесцентной ультрафиолетовой микроскопии и некоторыми гистохимическими методами.
18. Ю. И. Рубинштейн, Микробиология 25, в. 2, 171 (1956). Люминесценция грибов *Fusarium Sporotrichiell*.
19. С. И. Васильев, В. В. Нечаев, Л. Н. Родионова, Ж. Микробиол., эпидемиол. и иммунобиол. 2, 59 (1957). По интенсивности флуоресценции взвеси бактерий в пробирке определяется их концентрация.
20. Л. Д. Деркачева, Н. Д. Жевандров, Ш. Д. Хан-Магометова. Об одном люминесцентном методе определения малых количеств бактерий. Доклад на VI Совещании по люминесценции, февраль 1958, Ленинград.
21. В. Е. Синельников, Советское здравоохранение Киргизии. Гигиена и эпидемиология, № 1, 49 (1957). О значении эффекта люминесценции воды при санитарном изучении водоемисточников.
22. П. П. Воронцов, Опыт применения люминесцентного анализа в курортологии. Доклад на VI Совещании по люминесценции, февраль 1958, Ленинград.
23. A. L. Edgar, M. Sokolow, J. Lab. Clin. Med. 36, 478 (1950); Ch. A. 45, 701 (1951). Опыты по количественному флуоресцентному методу определения хинидина в крови.
24. В. Х. Анестиади, Методы люминесцентного анализа. Материалы VIII совещания по люминесценции, 1959 г.; Изд. АН БССР, Минск, 1960, стр. 107. Люминесцентно-микроскопический анализ рака кожи.
25. Л. Н. Брайнс, С. Н. Брайнс, Б. В. Свешников, ДАН СССР 78, № 1, 47 (1951). Люминесцентный метод диагностики экспериментального гипертонического состояния.

ГЛАВА XVII

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В ФАРМАЦИИ

Имеется большое число отдельных работ, посвященных применению люминесцентного анализа в фармации [1]. Большинство этих работ относится к тому времени, когда самое явление флуоресценции было еще мало изучено, а задачи и возможности люминесцентного анализа совершенно не выяснены. Хорошей иллюстрацией этого положения является работа Мюллера [2], просмотревшего флуоресценцию 252 пахучих веществ. В главе V было показано, почему это трудоемкое исследование заведомо было обречено на неуспех. Тем не менее в фармацевтических журналах на работу Мюллера ссылаются, как на полноценную и авторитетную.

Не останавливаясь на перечислении отдельных статей, попытаемся рассмотреть, какие из приемов люминесцентного анализа и при разрешении каких задач могут быть эффективно применены в фармации.

П р и е м I — наблюдение флуоресценции интересующего вещества — с успехом может быть использован для различных целей.

1. Как метод обнаружения изменений, претерпеваемых веществом, к тем лекарственным формам, у которых в процессе порчи изменяются люминесцентные свойства; так, некоторые вещества утрачивают способность флуоресцировать или, наоборот, ее приобретают, другие изменяют цвет флуоресценции. Приведем несколько примеров.

При гидролизе аспирина получается салициловая кислота, обладающая довольно яркой флуоресценцией синего цвета, сам же аспирин не светится. Поэтому по флуоресценции твердых кристаллических препаратов аспирина можно судить о степени их разложения. Опыты, проведенные в лаборатории Московского фармацевтического института [3], показали, что метод является исключительно чувствительным и удобным для контроля степени гидролиза. Наблюдения удобно вести под люминесцентным микроскопом.

В работе [4], посвященной вопросам применения физических методов в фармации, имеется упоминание, что в отношении аспирина люминесцентный метод анализа находит применение в аптечной практике.

Изменение флуоресценции фолликулина, вызываемое, по-видимому, его окислением, подробно описано в главе XII, стр. 200. Мы не будем возвращаться к этим данным и только подчеркнем возможность следить по флуоресценции за изменением препаратов фолликулина.

Возможно, что и изменение адреналина можно обнаруживать по флуоресценции; впрочем, данные, приведенные в главе XII, стр. 208, относятся к щелочным растворам, и вопрос подлежит специальному обследованию.

Известен случай, когда люминесцентным методом удалось обнаружить в заводской лаборатории причину порчи препаратов инсулина, которая, как оказалось, была обусловлена недоброкачественностью пробок (ср. гл. XIV, стр. 257).

По Мак-Фарлану [4], свежеприготовленный сульфат гидрастина не светится, но при стоянии начинает флуоресцировать.

2. Прием I может быть широко использован для обнаружения флуоресцирующих компонентов как в лекарственных формах, так и в растительном сырье [5]. Область применения этого приема определяется в первую очередь тем, как часто встречаются флуоресцирующие вещества среди лекарственных препаратов.

По Гайтингеру [6], при сильном возбуждении под люминесцентным микроскопом флуоресцируют многие алкалоиды в твердом состоянии. Так, из числа алкалоидов атропиновой группы: атропин флуоресцирует синим светом, гиосциамин красно-лиловым, скополамин и его солянокислая соль синим светом. Из группы кокаина: кокаин и тропакочаин люминесцируют светло-синим светом, хелидонин также светло-синим; из числа изохинолиновых алкалоидов: папаверин светится беловато-синим светом, гидрастин — ярко светло-зеленым светом, наркотин темно-фиолетовым светом, опиановая кислота синеватым, котарнин темно-оранжевым, солянокислая соль котарнина желтым светом, причем только гидрастин флуоресцирует ярко. Яркая флуоресценция желтого цвета характерна для берберина. Морфин флуоресцирует светло-синим светом, тебаин — красновато-желтым, кодеин флуоресцирует слабо желтым светом, колхицин — интенсивно желто-зеленым, пилокарпин — белым светом, эметин — желто-зеленым, стрихнин светится ярко сине-зеленым светом, физостигмин — фиолетовым. Следует, однако, подчеркнуть, что эти данные нельзя считать безусловно верными, так как обычные препараты Мерка, для которых эти данные приведены, могли быть поверхностно загрязнены примесями.

В растворе флуоресцирует хинин; по Гайтингеру, остальные алкалоиды флуоресцируют лишь слабо.

Поскольку алкалоиды обладают основными свойствами, ясно, что их флуоресценция изменяется в зависимости от pH раствора.

Из других медикаментов яркая флуоресценция характерна для антрахиноновых гликозидов, далее для акрихина, риванола и вообще производных акридина [7].

Краснова [8] разработала люминесцентно-хроматографический метод разделения алкалоидов группы хинина и применила его для определения содержания хинина в хинете. В качестве адсорбента она употребляла специально для этого ею приготовлявшийся силикагель.

Яркая флуоресценция красного цвета характерна для растворов хлорофилла. По этой типичной флуоресценции легко обнаружить загрязнение хлорофиллом галеновых препаратов и tinkтур.

По Мак-Фарлану [4], наблюдение флуоресценции представляет собой прекрасный метод обнаружения примесей, например, в жирах, в воске и маслах. На рис. 73 приведены наши микрофотограммы спектров флуоресценции растворов пролана — очищенного и неочищенного. Из их сравнения видно различие в свечении обоих препаратов не только по яркости, но и по цвету: спектр флуоресценции очищенного пролана смещен в сторону меньших длин волн.

По флуоресценции можно проводить быстрый качественный анализ. По флуоресценции обнаруживают новые, ранее не описанные соеди-

нения; так, например, по флуоресценции пытаются выявить ядовитое начало растения *Chelidonium majus* и устанавливают его сходство с берберинном [9].

Люминесцентно-хроматографическим методом нам удалось выделить и охарактеризовать 9 компонентов экстракта крушины по совокупности шести экспресс-реакций [10] (гл. V, стр. 62).

3. Наблюдение флуоресценции под люминесцентным микроскопом [11] дает возможность чрезвычайно эффективно использовать первый прием в целях исследования лекарственного сырья; эти наблюдения обогащают фармагнозию дополнительными сведениями относительно изучаемого объекта и для его характеристики позволяют использовать экспресс-метод.

В некоторых случаях, благодаря исключительной чувствительности флуоресцентного метода, создается возможность судить о локализации в растении флуоресцирующих веществ и о динамике их накопления.

Приемы II и III — качественные люминесцентные реакции и количественный флуоресцентный анализ — находят применение в фармации постольку, поскольку в ней решаются задачи химического характера. Как на один из примеров укажем на люминесцентно-хроматографический метод разделения тинктуры белладонны на атропин, скополамин и гиосциамин и на их

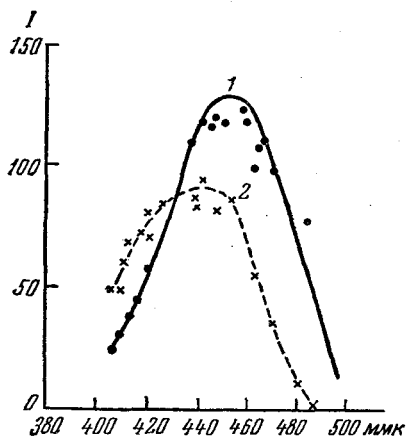


Рис. 73. Микрофотограммы спектров флуоресценции растворов пропана:

1 — пропан неочищенный; 2 — пропан очищенный.

раздельное количественное определение [8].

Возможности многообразного применения приема пятого ясны из сказанного в главе V.

В работах по люминесцентному анализу в фармации мы встретились за последнее десятилетие только с одним принципиально новым направлением — с применением метода бумажной разделительной хроматографии. Принцип этого метода описан в гл. V, конкретные примеры читатель найдет в аннотациях, приведенных в разделе дополнительной литературы к этой главе.

В заключение остановимся на работе Штейнер [12], озаглавленной «Флуоресцентные аналитические реакции идентификации лечебных экстрактов в швейцарской V фармакопее».

Автор разработал капельные реакции на фильтровальной бумаге с использованием наблюдений флуоресценции в ультрафиолетовом свете. Из экстрактов делались вытяжки с применением различных растворителей: ацетона, хлороформа, эфира, в отдельных случаях 95%-ного спирта и бензола. Хотя некоторые экстракты флуоресцируют как сами по себе, так и при нанесении на бумагу, однако и для их идентификации необходимо применять химические реакции. 2—3 капли полученного экстракта наносились на бумагу; реактив добавлялся, когда капля высохла, флуоресценция замечалась перед добавлением и сразу после добавления реактива.

Для экстракта алоэ характерна капельная реакция на бумаге: при взаимодействии ацетоновой вытяжки с 1%-ным водным раствором буры

появляется очень яркая светло-желтая флуоресценция. Реакция много чувствительнее обычно рекомендуемой, применима для открытия алое в смесях.

Extractum Aurantii amari fluidum дает многочисленные реакции на бумаге. У ацетоновых экстрактов щелочные реагенты вызывают флуоресценцию желто-зеленого цвета, а у хлороформенных и эфирных — сине-фиолетового.

Экстракт белладонны — ярко-голубая флуоресценция при капельной реакции обуславливается присутствием β -метил-эскулетина. Эта реакция может быть использована для различения экстракта *Hyoscyami* от экстракта белладонны.

Хинные экстракты — хлороформенные вытяжки из них дают более яркую флуоресценцию, чем эфирные.

Extractum Cosae fluidum — яркая желто-зеленая флуоресценция обуславливается, вероятно, примесью кверцетина. Для *Extractum Colosynthis* и *Extractum Condurango fluidum* описаны флуоресцентные реакции, но не установлено, какими именно компонентами они обуславливаются.

Extractum Digitalis хотя и флуоресцирует в результате взаимодействия с некоторыми реактивами (нитратом алюминия, карбонатом аммония), однако пригодность флуоресцентной реакции сомнительна.

Для *Extractum Faecis*, *Extractum Fellis Bovis* и *Extractum Scillae* удовлетворительные результаты удается достигнуть только применением капельных реакций на пластинке (с концентрированной серной кислотой и др.).

Для *Extractum Ferri pomati fluidum* и *Extractum Colae fluidum* никакой флуоресцентной реакции подобрать не удалось.

Яркие и типичные флуоресцентные реакции обнаружены у *Extractum Hydrastidis fluidum*, *Extractum Liquiritae fluidum*, *Extractum Rotanhiae*, *Extractum Rhamni Frangulae*, *Extractum Rhei*.

Всего рассмотрено 38 экстрактов. Приведен список 48 применявшихся неорганических и органических реактивов (с указанием концентраций). Для каждого экстракта указываются реакции с несколькими реактивами для различных вытяжек из него. Не останавливаясь на критическом разборе данных, сообщаемых в работе, мы приводим ее, полагая, что она стимулирует интерес к люминесцентному анализу у работников фармации.

В дополнительном списке литературы приведен ряд других интересных применений люминесцентного анализа в фармации.

ЛИТЕРАТУРА к гл. XVII

1. P. W. Danckwortt, J. E. Eisenbrand, *Luminescenzanalyse im filtrierten ultravioletten Licht*, 1956, Leipzig, 6-е изд.
П. В. Данкворт, Люминесцентный анализ в фильтрованном ультрафиолетовом свете. Перевод с 2-го изд., ГНТИ, 1931 г.
2. A. Müller, *J. prakt. Chem.* 154, 209 (1940).
3. М. Константинова-Шлезингер и З. И. Кунеева, Обнаружение флуоресцентным методом гидролиза аспирина, Доклад на конференции. Моск. фарм. ин-та, 1947.
4. R. L. McFarlan, *Appl. Physics* 9, 574 (1938).
5. K. Leupin, A. J. Steiner, *Hundert Jahre Schw. Apoth. Ver.*, Oct. 1943, 481; *Ch. A.* 38, 1844 (1944). Определение содержания аскорбиновой кислоты в таблетках флуоресцентным методом. E. M. James, A. F. Wokes, *Quart. J. Pharm. Pharmacol.* 18, 258 (1945); *Ch. A.* 40, 1280 (1946). Флуоресцентный метод определения вита-

- мина В в таблетках и других фармацевтических препаратах. Исследуется влияние тушения на получаемые результаты (на 100 образцах). О. М. Ефименко, ЖПХ 9, 1400 (1940). Люминесцентный метод определения хинных алкалоидов. Н. К ä m p f, Hundert Jahre Schw. Apoth. Verein, 1943, 475; Ch. A. 38, 1942 (1944). Обнаружение рапонтицина в ревене; перед другими методами отдается предпочтение люминесцентному. J. P. Casparis a. E. Manella, Hundert Jahre Schw. Apoth. Ver., 1943, 347; Ch. A. 38, 1841 (1944). Обнаружение естественных кумаринов в аптекарских товарах — описана флуоресценция растворов.
6. M. H a i t i n g e r, Die Fluoreszenzanalyse in der Mikrochemie, 1937, Wien—Leipzig.
 7. М. Коренман и Ж. Костылев, Фармация 4, № 6/6, 23 (1941). Микрхимические реакции на риванол и акрихин; T. C. Butler, J. Pharmacol. 80, 70 (1944); Ch. A. 38, 1429 (1944). Описаны спектры флуоресценции атербина. А. И. Костякова, Ж. анал. химии 6, № 4, 251 (1951). Флуоресцентный метод качественного и количественного определения акрихина и риванола в биологических объектах.
 8. В. С. Краснова, Ж. прикл. химии 18, № 4—5, 284 (1945).
 9. K. K a u l u. H. H. M e u e r, Arch. Pharm. 281, 287 (1943); Ch. A. 38, 5641 (1944).
 10. М. Константинова-Шлезингер, Фармация, № 4, 26 (1943). Люминесцентно-хроматографический метод изучения лекарственного сырья.
 11. M. H a i t i n g e r, Fluoreszenzmikroskopie, ihre Anwendung in der Histologie u. Chemie, 1938; Bul. Sci. pharmacol. 49, 129 (1942); Ch. A. 38, 6364 (1944). Многочисленные примеры применения люминесцентной микроскопии к фармацевтическим препаратам и сырью.
 12. J. S t e i n e r, Pharm. Acta Helv. 26, 107 (1951).

Дополнительная литература

1. O. H r d ý and A. S l o u p, Ceskoslov. farm. 1, 71 (1952). Флуоресцентное определение малых количеств перкаина.
2. T. N u m a i, Science and Crime Detection (Japan) 8, 5 (1955). Флуоресцентные реакции открытия наркотиков и других алкалоидов.
3. A. F u j i t a and M. A o y a m a, J. Biochem. (Japan) 90, 157 (1953). Колориметрическое и флуоресцентное определение витамина А в рыбьем жире.
4. W. C h i u s a, Mikrochemie Ver. Mikrochim. Acta 33, 159 (1947). Идентифицирование прессованного и рафинированного оливкового масла и их смесей флуоресцентным методом.
5. E. W e g n e r, Pharmazie 5, 445 (1950). Фотометрическое определение алкалоидов мака. П. Количественный метод определения папаверина.
6. K. V. J e n s e n, Acta Pharmacol. Toxicol. 12, 27 (1956). Определение сердечных гликозидов и агликонов методом бумажной хроматографии и флуоресцентным.
7. H. S i l b e r m a n and R. H. T h o r p, J. Pharm. and Pharmacol. 6, 546 (1954). Определение компонентов сердечных гликозидов в образцах растений дигиталиса.
8. Е. Л. Коверга и А. С. Коверга, Биохимия 14, вып. 5, 436 (1949). Микрометод определения суммы алкалоидов белладонны и дурмана в ультрафиолетовом свете.
9. В. Ваверан, Изв. АНЛатв. ССР, № 10, 85 (1954). Капиллярный и люминесцентный анализ экстрактов папоротника и их составных частей. В. Е. Синельников, Роль люминесцентного анализа при изучении водоснабжения, Министер. здравоохран. Киргизской ССР, Научно-иссл. ин-т эпидемиологии, микробиологии и гигиены, Сборник трудов, вып. III, 218 стр., Фрунзе, 1957.
10. E. S h o t t o n and A. F. S. A. H a b e e b, J. Pharm. and Pharmacol. 7, 456—462 (1955). Определение флуоресцина в разбавленных растворах.
11. S. H e l a n d e r, Acta Pharmacol. and Toxicol. 6, 97 (1950). Распределение в тканях некоторых производных салициловой кислоты.
12. K. A l i n, S. H e l a n d e r, Acta Tuberculozoza 22, № 4, 283; Mikroskopie 6, № 11—12, 397 (1951).
13. Я. М. Богуславский, Гигиена и санитария, № 9, 25 (1947). Исследование кварцевой пыли методом люминесцентного анализа.

14. Р. С. Белова, Труды Саратовск. обл. научн.-иссл. ин-та сан. гигиен. 4, 183 (1948). Опыт применения люминесцентного анализа при определении загрязнения воды Волги нефтью.
 15. И. Ф. Туров, Новости медицины, вып. 26, 19 (1952). Объективный флуоресцентный метод анализа в практике гигиенического исследования воздуха.
 16. M. Rohm, L. Fuchs, Naturwiss. 41, № 3, 63 (1954). Разделение методом бумажной хроматографии алкалоидов спорыньи.
 17. P. Ozena, C. R. 233, № 2, 194 (1951). Флуоресценция лишайников в Вудовском свете.
 18. T. Swain, Biochimie J. 53, 200 (1953). Сине-зеленым светом люминесцирует аглюкон скополотина, но не его гликозид.
 19. H. Nadovsky, Acta Pharmacol. Toxicol. 6, 293 (1950). Специфичная сопротивляемость микроорганизмов химиотерапевтическим средствам.
 20. С. И. Васильев, В. И. Николаев, Методы люминесцентного анализа. Материалы VIII совещания по люминесценции, 1959 г. Изд. АН БССР, Минск, 1960 г., стр. 126. Количественное определение сердечных гликозидов в растворах методами объективного люминесцентного анализа.
-

ЛЮМИНЕСЦЕНТНАЯ МИКРОСКОПИЯ В БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЕ

Люминесцентная микроскопия зародилась в начале этого века как разновидность ультрафиолетовой микроскопии [1]. Одна из первых работ с применением люминесцентной микроскопии в биологии была выполнена известным русским ученым М. А. Цветом в 1911 г. [1а]. Прогресс люминесцентной микроскопии в дальнейшем был связан с введением в практику флуоресцентных красителей, так называемых флуорохромов, с усовершенствованием аппаратуры, разработкой новых люминесцентно-цитохимических методов, изысканием новых областей ее применения. Основные принципы и методы применения флуорохромов были разработаны в свое время Хайтингером и его сотрудниками [2]. Введением в научно-исследовательскую и практическую работу превосходного флуорохрома акридинового оранжевого мы обязаны Штруггеру [3]. Усовершенствование аппаратуры шло преимущественно в направлении повышения поверхностной яркости источника света, возбуждающего люминесценцию, и улучшения светофильтров. Принципиально новые возможности открылись после изобретения Брумбергом и Гершгориным ахроматических отражательных объективов. Разработанный Брумбергом (в 1955 г.) специальный люминесцентный опак-иллюминатор, позволяющий значительно повысить яркость люминесценции микроскопических препаратов, открыл новые возможности и области применения люминесцентной микроскопии *).

*) Для освещения препарата возбуждающим светом сверху, со стороны наблюдения, при флуоресцентной микроскопии потребовалось изменить устройство обычного опак-иллюминатора.

Первый флуоресцентный микроскоп с новым опак-иллюминатором был сконструирован Е. М. Брумбергом и С. А. Гершгориным в 1948 г. В последнее время нашей промышленностью выпускается новый прибор этого типа ОИ-17. Опак-иллюминатор укрепляется на микроскопе между штативом и тубусом. Основное отличие его от обычных опак-иллюминаторов состоит в применении над объективом селективного отражателя, имеющего разные коэффициенты отражения для лучей разных длин волн. В опак-иллюминаторе флуоресцентного микроскопа в качестве такого отражателя используют интерференционное делительное зеркало. Интерференционное делительное зеркало представляет собой стеклянную пластинку, покрытую с одной стороны системой нанесенных друг на друга очень тонких (порядка длины световой волны) слоев прозрачных веществ с чередующимися высоким и низким показателями преломления. Обычно на это зеркало-светофильтр наносится от 5 до 11 слоев.

Избирательное отражение и пропускание таким светофильтром лучей определенного спектрального состава происходит в результате интерференции света, отраженного разными слоями. Такой опак-иллюминатор выгодно отличается очень высоким, близким к единице, коэффициентом использования света, так как в нем возбуждающие люминесценцию световые лучи отражаются на 90%, а свет люминесценции сво-

В настоящее время люминесцентная микроскопия находит все более широкое применение в различных областях научной и практической работы: в вирусологии, микробиологии, гистологии (нормальной и патологической), в физиологии, ботанике, онкологии, радиобиологии, а также при проведении лабораторно-клинических анализов, в санитарных и судебно-медицинских исследованиях. Среди новых направлений большой интерес представляет предложенный в свое время Кунсом с сотрудниками [4] исключительно чувствительный люминесцентно-иммунохимический метод меченых антител.

1. Аппаратура

Простая установка для люминесцентной микроскопии состоит из обычного лабораторного осветителя с лампой типа точечной, из кюветы, наполненной раствором серномедноаммиачной соли, и биологического микроскопа с желтым светофильтром на окуляре.

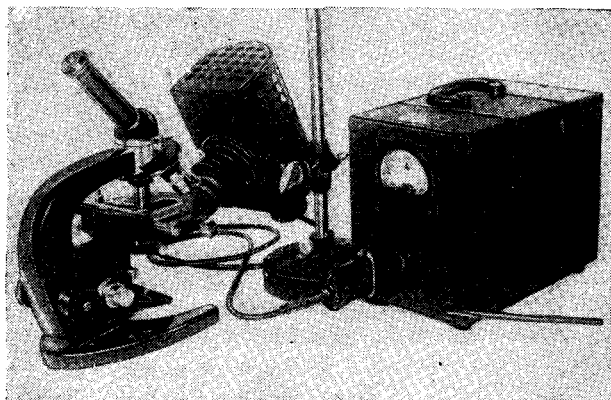


Рис. 74. Осветитель ОИ-18 для люминесцентной микроскопии, установленный для исследований в проходящем свете.

Аппаратура для люминесцентной микроскопии должна удовлетворять следующим двум основным требованиям.

1. Люминесцентное свечение микроскопического препарата должно быть тщательно отделено от лучей возбуждающего света, прошедшего сквозь препарат или отраженного от него. Для этого применяют скрещенные светофильтры (гл. VI, стр. 88); из них первый, прозрачный только в области длин волн 300—400 мкм (т. е. пропускающий возбуждающее ультрафиолетовое и сине-фиолетовое излучение), ставится по ходу светового пучка перед объектом; второй, «запирающий», непрозрачный

бодно (на 90%) через него проходит. Это свойство крайне ценно для люминесцентной микроскопии, особенно при больших увеличениях, когда важно полное использование света. В opak-иллюминаторе возбуждающий люминесценцию свет проходит через объектив микроскопа, т. е. объектив в этом направлении действует как конденсор. В силу этого яркость возбуждающего света будет возрастать (в четвертой степени) с увеличением апертуры объектива. Следовательно, в пределах полезного увеличения микроскопа, яркость люминесценции препарата заметно возрастает при микроскопировании с большими объективами, особенно иммерсионными.

для возбуждающего излучения, т. е. для лучей именно тех длин волн, которые пропускаются первым светофильтром, располагают после объекта (чаще всего над объективом или окуляром микроскопа).

2. Должна быть обеспечена возможность концентрировать возбуждающее излучение с минимальными потерями энергии с тем, чтобы достигнуть возможно большей интенсивности возбуждения и соответственно яркости люминесценции в рассматриваемой точке препарата. В простейшем случае для возбуждения применяют обычный фабричный или самодельный осветитель для микроскопии, приспособленный для пользования низковольтными лампами накаливания точечного типа, точнее, лампами с возможно меньшей площадью накала. Наиболее подходящими являются малая кинопроекторная лампа К-30 (170 *вт*, 17 *в*) или лампа с воронкообразной спиралью СЦ-62 (100 *вт*, 12 *в*). Осветитель должен быть снабжен конденсором, сводящимся лучи в параллельные.

В настоящее время промышленность выпускает специальные осветители для люминесцентной микроскопии, снабженные комплектами стеклянных светофильтров, что позволяет возбуждать люминесценцию и ультрафиолетовым и сине-фиолетовым светом. Такие осветители имеют

марку ОИ-18. Они предназначены для освещения объектов в проходящем свете при любых увеличениях микроскопов МБР-1, МБР-3 и МБД-4 (рис. 74) и для возбуждения люминесценции в падающем свете на столике стереоскопического микроскопа МВС-1. Под маркой ОИ-17 выпускается комплект, состоящий из осветителя ОИ-18 и люминесцентного опак-иллюминатора. Аппаратура, входящая в этот комплект, обеспечивает, кроме уже упомянутых возможностей, возбуждение люминесценции в падающем свете через объективы микроскопа, вплоть до самых больших увеличений. Установка аппаратуры комплекта ОИ-17 для исследований с опак-иллюминатором представлена на рис. 75. С 1958 г. наша промышленность стала производить специальные большие люминесцентные микроскопы МЛ-1 и МЛ-2 для разнообразных люминесцентных исследований при возбуждении как в проходящем, так и в падающем свете (сине-фиолетовом и ультрафиолетовом). Источником света в этих микроскопах служит мощная ртутно-кварцевая лампа сверхвысокого давления ДРШ-250. Микроскопы МЛ-1 и МЛ-2 — одни из лучших среди всех известных люминесцентных микроскопов (рис. 76). Опак-иллюминатор, установленный на обычном биологическом микроскопе или входящий в конструкцию микроскопов МЛ, позволяет

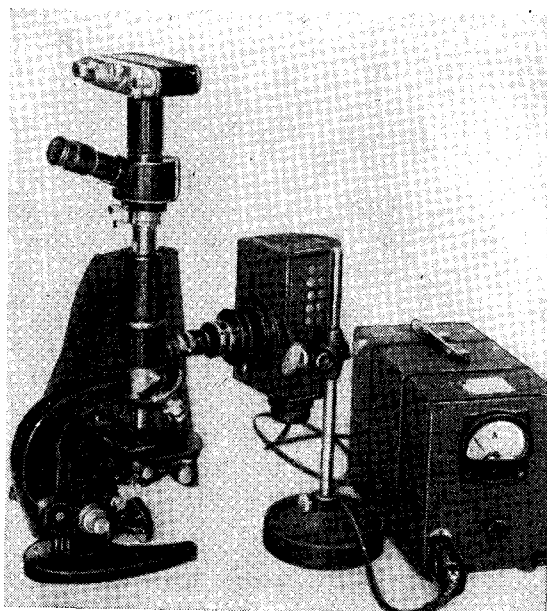


Рис. 75. Осветитель ОИ-17 для люминесцентной микроскопии, установленный для исследования в падающем свете.

проводить комбинированные люминесцентные, фазо- и аноптрально-контрастные исследования.

Оптика микроскопов для люминесцентных исследований обычная, объективы желательны высокоапертурные, окуляры—с наименьшим из возможных собственным увеличением. Для работы с иммерсионными объективами необходимы иммерсионное масло или другие жидкости, не обладающие собственной люминесценцией (кедровое масло обычно люминесцирует). Хорошие результаты дают водные иммерсионные объективы. Предметные и покровные стекла для люминесцентной микроскопии предварительно проверяют на отсутствие собственной люминесценции.

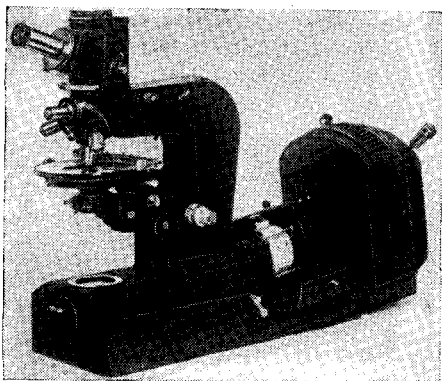


Рис. 76. Люминесцентный микроскоп МЛ-1.

Собственная или так называемая первичная люминесценция присуща только некоторым структурам в исследуемых микроскопических препаратах. Большинство веществ биологического происхождения имеет весьма мало интенсивную голубую, синюю или фиолетовую люминесценцию (максимумы в спектрах люминесценции многих из них лежат в ультрафиолетовой области спектра), поэтому возбуждать люминесценцию биологических объектов необходимо ультрафиолетовым светом, а в качестве «запирающего» светофильтра выбирать такой, который отсекает только ультрафиолет (например ЖСЗ; см. гл. VII).

Для микроскопического исследования собственной люминесценции биологических объектов желательно избегать их соприкосновения с фиксирующими жидкостями; срезы из свежих тканей следует делать на замораживающем микротоме. Некоторые витамины (А, В₂), пигменты (липофусцины, хлорофилл), а также и другие вещества под влиянием более или менее длительного освещения ультрафиолетовым излучением претерпевают фотохимические изменения и перестают люминесцировать. Поэтому микроскопирование таких веществ следует проводить по возможности быстро, часто меняя места наблюдения в исследуемом объекте.

3. Флуорохромы и флуорохромирование

У подавляющего большинства биологических объектов их собственная неяркая люминесценция не позволяет проводить люминесцентно-микроскопические исследования и для избирательного выявления определенных структур применяют люминесцентные красители — флуорохромы.

Методы флуорохромирования, т. е. обработки объектов флуорохромами, впервые были предложены Хайтингером [5] и в дальнейшем для различных целей разрабатывались многочисленными исследователями. В настоящее время известно несколько десятков органических соединений, с успехом используемых в качестве флуорохромов. К ним относятся

красители: тиазоловые, ксантеновые, хинолиновые, азокрасители и особенно акридиновые производные. Хорошими флуорохромами являются некоторые естественные пигменты (хлорофилл, липохромы), алкалоиды (берберин, хинин), углеводороды (бензпирен, дибензантрацен). Флуорохромы применяются в сильно разведенных водных или спиртовых растворах (от 1 : 1000 до 1 : 100 000). Углеводороды (бензпирен) растворяют в насыщенном водном растворе кофеина.

Флуорохромирование проводят либо прижизненное, либо на фиксированных препаратах. Прижизненное флуорохромирование в свою очередь может быть осуществлено или на целом животном или растительном организме (путем инъекции или введения с пищей), или на отдельных тканях и клетках. Прижизненное флуорохромирование особенно полезно при исследованиях функционального состояния и физико-химической характеристики органов, тканей и клеток.

Для изучения экскреторной функции органов наиболее употребительны натриевая соль флуоресцеина (уранин), триафлавин и тиофлавин. Для исследования состояния клеток, ядерных и цитоплазматических нуклеопротеидов применяют акридиновый оранжевый и ауорофосфин. Прижизненное выявление липоидов и жиров производят при помощи фосфина, нейтрального красного, нильского голубого или насыщенного раствора бензпирена (в водном растворе кофеина).

Фиксацию объектов для последующего флуорохромирования производят в 96%-ном спирте или в смеси Карнуа (спирт, хлороформ и уксусная кислота в соотношении 6 : 3 : 1). Можно фиксировать и в формалине; следует, однако, помнить, что этот фиксатор вызывает частичную деполимеризацию дезоксирибонуклеиновой кислоты. Флуорохромирование осуществляют водными или спиртовыми растворами флуорохромов (1 : 1—2 тысячи) в течение 10—30 секунд или, если концентрация раствора флуорохрома еще меньше, несколько дольше. В ряде случаев водные растворы флуорохромов целесообразно готовить на буферных растворах. Это особенно существенно для флуорохромов, обладающих так называемой люминесцентной метакромазией, т. е. флуорохромов, цвет свечения которых зависит от физико-химических свойств субстрата, с которым они связываются. Так, например, для отчетливого различения в клетках дезоксирибонуклеопротеидов и рибонуклеопротеидов применяют акридиновый оранжевый; рН его растворов должно иметь значение от 3,5 до 5,5 [6].

Живые и переживающие ткани и клетки, а также одноклеточные организмы, прижизненно флуорохромуются непосредственно на предметном стекле, накрываются покровным стеклом и исследуются с помощью люминесцентного микроскопа. Чтобы препараты не подсыхали — покровное стекло прикрепляют к предметному парафиновой рамкой.

Для приготовления постоянных препаратов флуорохромированные срезы или фиксированные мазки на предметных стеклах быстро промывают в дистиллированной воде или буфере, проводят через 96%-ный спирт, карбол-ксилол и заключают в акриловый клей, полистирол или винилин. Акриловый клей представляет собой раствор метакриловой смолы, полимеризованной в ксилоле. Он быстро высыхает и вполне прозрачен для видимого и ультрафиолетового света до 300 мкм. Его применение для люминесцентной микроскопии было предложено Бухман с сотрудниками [7]. Шалумович рекомендует заключать в сахарный сироп [22, доп. сп.].

Если полное обезвоживание объекта нежелательно, то в качестве заключающей среды может быть использован винилин [8].

Срезы и мазки хорошо сохраняются в полистироле [9], если они хорошо обезвожены в 96%-ном спирте и проведены через карбол-ксилол. Гуткиной, Арутюновым и Мамулем был недавно рекомендован [10] быстрый и вместе с тем не портящий флуорохромы метод обезвоживания препаратов при помощи спирта или лиофильной сушки.

Если флуорохромированные препараты не подлежат длительному хранению, то исследовать их можно в воде или в глицерине.

Фотографирование люминесцентных препаратов лучше всего производить на цветную негативную пленку, отличающуюся высокой чувствительностью (ЛН-3); можно также непосредственно получать диапозитив, используя для этого цветную обратимую пленку, чувствительную для дневного света. При фотографировании выгодно пользоваться окуляром с наименьшим увеличением. Продолжительность экспозиций — от нескольких секунд до нескольких минут. Бируковым разработаны специальные методы люминесцентной микрокиносъемки [11].

4. Люминесцентная микроскопия в цитологии и гистологии. Прижизненное флуорохромирование

Люминесцентная микроскопия принадлежит к наиболее тонким методам исследования структуры, биохимического, физико-химического и функционального состояния клеток.

Флуорохромы связываются с компонентами микроскопических препаратов по-разному: электростатически — связями типа солеобразных и более слабо — силами типа ван-дер-ваальсовых. Этим объясняется то, что, в зависимости от особенностей физико-химической природы, отдельные структуры и компоненты на срезах из тканей могут люминесцировать по-разному, хотя соответствующие препараты изготовлены с использованием одного и того же флуорохрома.

Нередко контрастность свечения увеличивается за счет собственной люминесценции отдельных структур, кроме того, в ряде случаев флуорохромы растворяются только в некоторых из компонентов препарата (например, в жирах и липоидах).

Хорошие результаты в отношении цветовых различий и контрастов дает иногда применение смеси флуорохромов (или последовательная обработка одного и того же препарата различными флуорохромами). Флуорохромы подбираются при этом так, чтобы каждый из них контрастировал определенную деталь в препарате. Не меньшее значение имеет прием, позволяющий более или менее избирательно тушить или изменять цвет или интенсивность люминесценции отдельных компонентов объекта; благодаря этому остальные компоненты, продолжающие ярко люминесцировать, могут быть выявлены особенно четко. Для такого тушения или легкого изменения характера люминесценции применяются красители слабо люминесцирующие (фуксин, магдаловый красный) или совсем не люминесцирующие (конго красный) или, наконец, известные тушители люминесценции (например, марганцевокислый калий).

При флуорохромировании жиров и липоидов различными флуорохромами также могут быть выявлены их особенности по специфическому характеру люминесценции. Перспективным здесь следует считать комбинированное использование различных жирорастворителей с флуорохромами. Особый интерес представляют возможности, открываемые при прижизненном флуорохромировании. В этих условиях с большой полнотой и четкостью выявляется богатая структурированность клеток и ядер,

особенности состояния цитоплазмы и ее нуклеопротеидов. Клетки разного возраста, происхождения и функциональной активности отчетливо различаются.

Для выявления ядер, их структуры и физико-химических особенностей наиболее подходят флуорохромы акридинового ряда, и в первую очередь акридиновый оранжевый, акридиновый желтый, ауорофосфин и корифосфин как таковые или в комбинации с берберинном и основным фуксином. Эти же флуорохромы связываются с цитоплазмой и ее компонентами, обуславливая, однако, их люминесценцию других цветов или оттенков. Цитоплазменные нуклеопротеиды и рибонуклеиновая кислота (РНК) частично отмещиваются и дают комплексы с акридиновыми флуорохромами, светящиеся огненно-красным или оранжевым светом.

(Мейсель и Корчагин [12] на выделенных из клеток нуклеиновых кислотах и их производных показали, что акридиновый оранжевый, связываясь с дезоксирибонуклеиновой кислотой (ДНК) или ДНК-протеидом, придает им ярко-зеленую люминесценцию, в то время как комплексы этого флуорохрома с рибонуклеиновой кислотой (РНК) и ее протеидом люминесцируют красным светом. Такие соотношения ими были обнаружены в случае прижизненного флуорохромирования клеток. Акридиновый оранжевый в этих условиях оказался весьма полезным цитохимическим реактивом. Аналогичные данные на фиксированных объектах были получены Шюммельфедером [6], а также Берталанфи [47] и Армстронгом [48]. Различная степень связывания акридинового оранжевого с ДНК и РНК зависит, по-видимому, от различной степени полимеризации этих кислот.

Значительное число витальных и суправитальных исследований над флуорохромированными тканями принадлежит Шюммельфедеру [6, 46]. Им установлено, что различные ткани по-разному меняют свое сродство к флуорохромам при повреждении и отмирании. Этот же исследователь удачно использовал флуорохромы для определения изоэлектрической точки для отдельных тканевых и клеточных компонентов.

В области зоологии и физиологии наибольшее значение люминесцентная микроскопия имеет для изучения функционирования отдельных органов животных, а также для определения состояния и жизнеспособности мелких животных, особенно паразитических и их личинок.

Для исследования функционального состояния органов животных в естественных условиях разработаны специальные методы витальной люминесцентной микроскопии с использованием различных opak-иллюминаторов и ультрапаков. Ультрафиолетовый или сине-фиолетовый свет, возбуждающий люминесценцию органов, падает на объект сверху, через объектив. В кровь или под кожу животному вводится раствор флуорохрома (на физиологическом растворе) и перемещение этого флуорохрома и его превращения в органе наблюдаются в люминесцентный микроскоп [49]. Этот метод был с успехом применен для изучения функциональной активности печени и почек [50—52] (см. рис. 77), для исследования нервной системы [53] и других органов.

Интересны результаты применения люминесцентной микроскопии к исследованию растительных тканей. В растительных клетках происходит более или менее значительное накопление флуорохромов в вакуолях; оно протекает с разной интенсивностью в зависимости от pH и гН окружающей клетки водной среды, а также от состава веществ, растворенных в вакуолях. Флуорохромы образуют различного типа соедине-

ния с компонентами вакуолей. Вследствие этого и люминесценция вакуолей может существенно различаться [38, 39]. Оболочки растительных клеток хорошо флуорохромируются примулином, тиазоловым желтым, розоловым красным и магдаловым красным (в последнем случае в комбинации с корифосином).

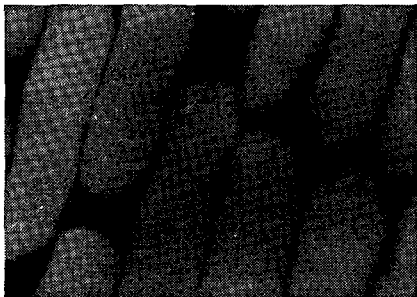


Рис. 77. Прижизненное выделение флуоресценции-калия (уранаина) клетками печени в желчные каналцы (витальное наблюдение над выделительной функцией печени).

Прижизненное флуорохромирование растительных тканей и клеток широко используется для цитофизиологических исследований [3, 38] и для определения патологических состояний клеток (рис. 78). В частности, на растительных клетках Штруггером была показана возможность различения живых клеток от поврежденных и отмерших при помощи акридинового оранжевого. Успешным оказалось и применение люминесцентных исследований в радиобиологических опытах [40]. Детальное изучение люминесцентно-

микроскопических показателей функционального состояния растительных клеток недавно провел Александров [41].

Горюнова показала возможность определения состояния жизнедеятельности водорослей по характеру люминесценции хлорофилла в их клетках.

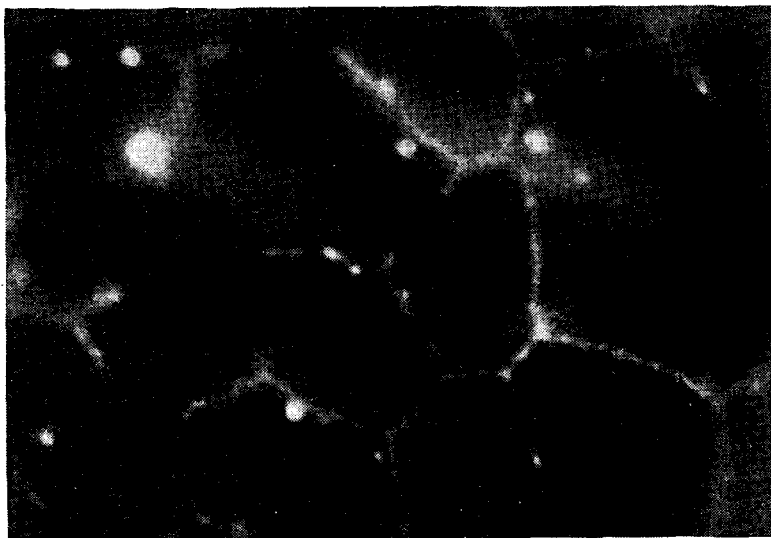


Рис. 78. Клетки из чешуйки лука, прижизненно флуорохромированные акридиновым оранжевым и подвергшиеся плазмолизу; ядра — зеленые, вакуоли — оранжево-красные.

О применении люминесцентной микроскопии в фитопатологии при грибковых поражениях и при исследовании вирусных заболеваний см. гл. XIII, стр. 225, 236, 246.

5. Люминесцентная микроскопия в иммунохимии

На новую высшую ступень люминесцентная цитохимия была поднята Кунсом с сотрудниками [4], разработавшими метод люминесцентно-меченых антител. В основном он заключается в следующем. В результате иммунизации животного соответствующим антигеном получают специфическую сыворотку; белковые их фракции, в которых преимущественно сосредоточены специфические антитела, обрабатывают флуорохромом и получают комплекс флуорохром — антитело, используемый для обнаружения соответствующего антигена. Наличие и локализация последнего в микроскопическом препарате выявляется в результате реакции антиген — антитело. Продукт этой реакции ярко люминесцирует и с помощью люминесцентного микроскопа может быть открыт даже в отдельных участках клеток [13, 14].

Для люминесцентной метки белков применяют флуорохромы: изоцианат и изотиоцианат флуоресцеина, некоторые производные родамина, в том числе изоцианат тетраметилродамина, хлорид диметил-нафтил-амино-сульфокислоты и ядерный красный прочный. Наиболее широко используется изоцианат флуоресцеина. Его растворяют в смеси диоксана с ацетоном и в таком виде соединяют с белком (обычно глобулиновой фракцией в количестве 5 мг флуорохрома на 100 мг белка) при температуре 0—5° С, перемешивая в течение 18 часов. Полученный конъюгат белка с флуоресцеином освобождают от несвязавшегося красителя сначала с помощью диализа против забуференного при pH=9,0 физиологического раствора. Дальнейшая очистка от избыточного красителя производится переосаждением белка сульфатом аммония (4—5 раз), пока надосадочная жидкость не перестает люминесцировать. Препараты (мазки, суспензии, замороженные срезы), как фиксированные ацетоном, так и нефиксированные, приводят в соприкосновение с люминесцентно-меченым белком в течение 30 минут, промывают в физиологическом растворе (pH=7÷7,5) и заключают в забуференный глицерин. Исследовать такие препараты лучше при ультрафиолетовом возбуждении. Соответствующие антигены при этом люминесцируют очень ярко светло-зеленым светом. Этот метод позволяет определять внутриклеточную локализацию чужеродных полисахаридов и белков, ферментов и гормонов, устанавливать антигенное родство тканей и клеток, быстро идентифицировать под микроскопом бактерии и вирусы.

Люминесцентно-иммунохимические методы дают возможность определять локализацию в клетках и изучать динамику образования антител. Так как получение люминесцентно-меченых антигенов трудно осуществимо (антигены принадлежат к разнообразным классам химических веществ), были предложены непрямые методы выявления антител [4, 15, 16]. Одним из таких методов является следующий. Препарат, содержащий искомое антитело, обрабатывается соответствующим немеченым антигеном; после того как произойдет образование комплекса антитело — антиген, этот же препарат обрабатывается люминесцирующим антителом, специфичным по отношению к данному антигену. Образующийся при этом тройной комплекс легко выявляется благодаря интенсивной люминесценции.

Реакции с люминесцентно-меченым белком, в особенности специфическими белками — антителами, отличаясь высокой специфичностью, позволяют проводить тончайшие цито-иммунохимические исследования с точной локализацией биологически важных веществ и процессов.

6. Люминесцентная микроскопия в вирусологии и микробиологии

Люминесцентную микроскопию эффективно используют теперь в вирусологии. Особое значение имеют здесь следующие флуорохромы: акридиновый оранжевый, примулин, аурамин, акридиновый желтый и берберин.

Для выявления крупных вирусов Хагеман [17] предложил примулин, дающий вполне удовлетворительные результаты [18]. Метод состоит в том, что мазки, содержащие вирусный материал, фиксируют высушиванием в течение часа при 37° С, промывают в дистиллированной воде и снова сушат 1 час при 37°. Такие мазки затем обрабатывают раствором примулина (1 : 500—1 : 1000) на 2%-ном водном растворе фенола. Левадита предпочитает обрабатывать препараты, содержащие вирусы, тиофлавином. За последнее время ряд авторов рекомендует применение акридинового оранжевого для флуорохромирования элементарных телец вирусов [19] как в свежих, так и фиксированных препаратах. Армстронг придает при этом особое значение активной кислотности раствора акридинового оранжевого; по его наблюдениям лучшие результаты получаются в интервале рН от 3,5 до 5,0.

(По нашим данным, акридиновый оранжевый весьма пригоден для обнаружения внутриклеточных вирусных включений. По данным Авакяна с сотрудниками прижизненное флуорохромирование этим красителем крайне ускоряет и упрощает обнаружение патологических изменений в клетках культуры тканей, зараженных вирусом полиомиелита, что весьма полезно для диагностики этого заболевания.)

(Для научно-исследовательских и диагностических целей в вирусологии особый интерес представляют описанные нами выше методы с применением люминесцентно-меченых антител. Эти методы [20] уже позволили разрешить ряд сложных вопросов, касающихся внутриклеточной локализации и динамики развития вирусных скоплений в клетках. Они привели к разработке методов практического распознавания вирусных инфекций, в частности вируса гриппа [21], и исследования вируса полиомиелита [22].)

Люминесцентной микроскопии риккетсий посвящено небольшое число работ; в них показана возможность выявления этих возбудителей при помощи флуорохромирования [23].

С каждым днем расширяется применение люминесцентной микроскопии в бактериологии.

Подавляющее большинство микроорганизмов не обладает сколько-нибудь выраженной и характерной собственной люминесценцией. Только у некоторых бактерий и микроскопических грибов образуются люминесцирующие пигменты (например, *Pseudomonas fluorescens*), порфирины и витамины (преимущественно рибофлавин). В этих случаях целесообразно производить исследование собственной люминесценции, во всех же остальных случаях приходится прибегать к флуорохромированию. Например, при изучении препаратов и мазков из тканей и жидкостей, получаемых из организма животных и человека, образцов почв, а также центрифугатов воды, водных смывов с различных предметов непосредственное флуорохромирование позволяет быстро и надежно обнаруживать в них бактерии и производить их количественный учет. О видовой принадлежности бактерий, выявленных прямым флуорохромированием, без дополнительных исследований судить трудно. Известно, однако, что грамположительные бактерии обычно связываются с флуорохромом энергичнее и прочнее, чем грам-отрицательные, что и может быть использовано

для их различения. На этом неодинаковом отношении бактерий к флуорохромам основаны некоторые из предложенных методов люминесцентно-микроскопической диагностики, в частности, так называемых кислотоустойчивых бактерий, например возбудителей туберкулеза [24], прокары и др. Люминесцентно-микроскопическая диагностика оправдывает себя при дифтерии [25, 26] (рис. 79), при заболевании гонорреей [27], при протозойных заболеваниях (малярия, лейшманиоз).

Мейсель с сотрудниками разработали [28] ряд новых методов применения флуорохромирования (преимущественно акридиновым оранжевым) при проведении реакции агглютинации бактерий на стекле (люминесцентная микроагглютинация), для быстрого выявления на мембранных фильтрах молодых, невидимых невооруженным глазом колоний бактерий (5—7-часового возраста) и для обнаружения фаголизиса этих крайне мелких колоний (рис. 80). Для исследования бактериальных колоний на мембранных фильтрах был использован прием подведения раствора флуорохрома (а также и бактериофага) с тыльной стороны фильтра (т. е. противоположной той, на которой расположены колонии бактерий), с последующим гашением люминесценции самого фильтра при помощи фуксина, конго красного, магдалового красного и других красителей.

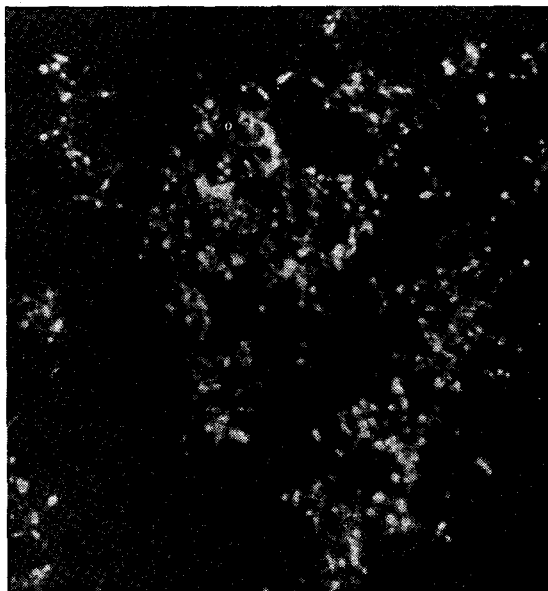


Рис. 79. Бактерии дифтерии при исследовании в люминесцентном микроскопе.

В бактериологии, так же, как и в вирусологии, наметились существенные сдвиги в применении люминесцентной микроскопии, что связано с введением методов люминесцентно-меченых антител. Исследования в этой области развиваются успешно в нашей стране и в США. В настоящее время показана возможность при помощи этих методов весьма быстро идентифицировать бактерии даже по единичным клеткам в мазках из смешанных культур бактерий, из органов зараженных животных, из почвы, воды и т. д.

Положительные результаты получены с бактериями дизентерии, сибирской язвы, брюшного тифа [29], псевдосапа [30] и др.

Попытки применить люминесцентную микроскопию для различения живых и мертвых бактерий до сих пор не могут считаться вполне результативными. Штруггер [3] предложил использовать для этой цели люминесцентную «метахромазию» акридинового оранжевого; однако при проверке однозначных результатов не получилось. По-видимому, следует испытать другие флуорохромы, в частности примулин в комбинации с родамином, и некоторые другие. Примулин сам по себе и в смеси с акридиновым оранжевым дал хорошие результаты для распознавания живых и мертвых дрожжевых клеток [31] и актиномицетов [32].

Ценные результаты по изучению тонкой структуры микробной клетки получены при помощи флуорохромирования акридиновым оранжевым, ауорофосфином и берберинном. Мы уже упоминали об исследовании Мейселя и Корчагина [12], обосновавшем цитохимические возможности люминесцентного различения нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) и соответствующих нуклеопротеидов. Эти данные получили полное подтверждение в ряде работ [33—35]; показано, что у бактерий, принадлежащих к разным

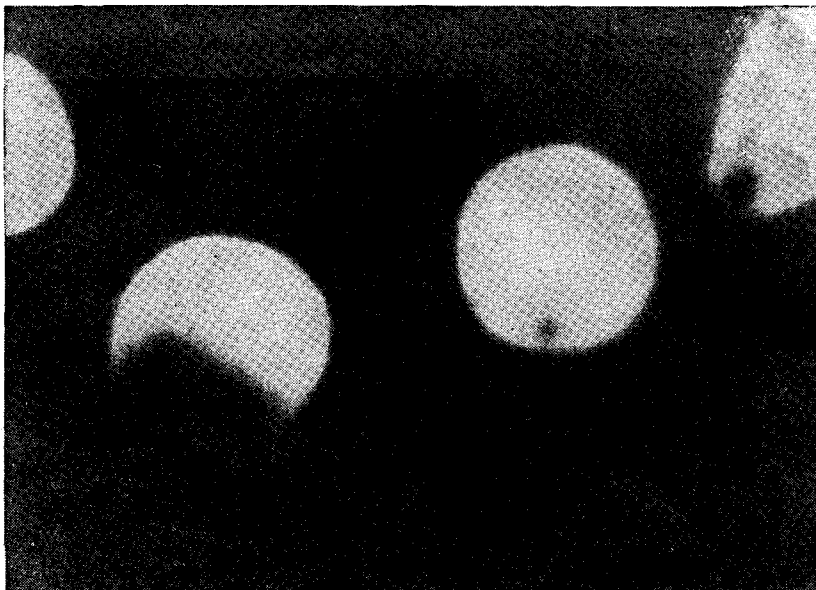


Рис. 80. Молодые колонии (7-часовые) бактерий дизентерии, подвергающиеся фаголизису (увеличение 80×). Колонии прижизненно флуорохромированы акридиновым оранжевым.

родам и видам, при флуорохромировании акридиновым оранжевым обнаруживается ядерная структура дезоксирибонуклеопротеидной природы. Тем самым можно считать установленным (с учетом цитологических данных, полученных другими методами), что и клетки бактерий имеют четкое деление на ядро и цитоплазму.

Прижизненное флуорохромирование дрожжевых клеток способствовало выяснению их тонкого строения и изучению структурных перестроек клеток, связанных с нормальным и патологическим метаболизмом [36, 37].

7. Люминесцентная микроскопия в медицине

Для теоретической медицины имеют существенное значение изложенные в предыдущих разделах методы люминесцентной цито-, гисто- и иммунохимии, а также витальная микроскопия органов и тканей.

В практической медицине используют люминесцентно-микроскопическую диагностику бактериальных и вирусных инфекций. В этой области особенно ценны методы, основанные на применении люминесцентно-меченых антител. Эти же методы крайне полезны для изучения различного рода патологических состояний, связанных с образованием в организме вредных антигенов и токсинов [54, 55].

В последнее время значительный интерес вызывают возможности люминесцентного исследования периферической крови и костного мозга при различных заболеваниях [56]. Люминесцентная картина крови чрезвычайно красочна, особенно при суправитальном флуорохромировании акридиновым оранжевым. Лейкоциты и лимфоциты люминесцируют зеленым светом с различными оттенками. Особенно ярко светятся ядра. У лейкоцитов и моноцитов в протоплазме выявляется разнообразная зернистость

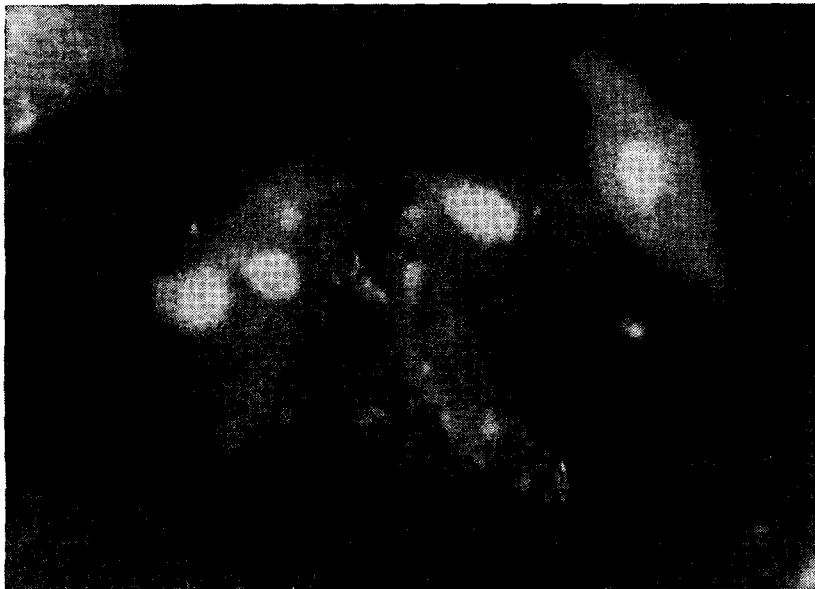


Рис. 81. Клетки плоского эпителия из слизистой оболочки глотки человека. Флуорохромирование акридиновым оранжевым.

с красным и оранжевым цветом свечения. Зрелые эритроциты не люминесцируют; в ретикулоцитах отмечается светящаяся красным зернистость. Желто-оранжевым светом люминесцируют кровяные пластинки.

Мейсель и Сондак [57] применили суправитальное флуорохромирование для изучения сдвигов в картине крови у животных, облученных ионизирующими излучениями. Ими описаны затем методы раннего люминесцентно-микроскопического обнаружения повреждений в костном мозгу облученных животных. Открыта своеобразная патологическая реакция, возникающая весьма быстро после облучения, проявляющаяся в образовании мелких очагов клеточной дегенерации и распада (так называемые микронекротические очаги). Сходные картины выявляются и в других кроветворных органах. Кондратьева [58] детально изучила клеточную патологию при развитии этой реакции.

Не подлежит сомнению, что для радиобиологии и радиопатологии люминесцентная микроскопия весьма ценна. Исследование клеток, добываемых из организма при помощи мазков или соскобов слизистых оболочек или путем пункций или биопсий, издавна являлось серьезным подспорьем для диагностики. Возможности такой диагностики (цитодиагностики) значительно расширились благодаря люминесцентной микроскопии (рис. 81, 82). Исследование мокроты, экссудатов, содержимого желудка,

спинномозговой жидкости, осадков мочи, кала значительно облегчается и ускоряется при использовании специальных методов микроскопии, особенно люминесцентного и фазово-контрастного; весьма полезно совместное применение этих двух методов, и это вполне осуществимо, если использовать люминесцентный опак-иллюминатор (ОИ-17) или микроскоп МЛ-2.



Рис. 82. Раковые клетки (рак глотки человека). Флуорохромирование акридиновым оранжевым.

Особое практическое значение приобретают эти методы для цитодиагностики злокачественных опухолей, особенно раковых. На фиксированных мазках способы флуорохромирования раковых клеток были разработаны Бобровым [59], Фридманом [61], Крамером [60]. Для суправитальной люминесцентной цитодиагностики основные принципы изложены в работах Мейселя и Гуткиной [62, 63]. Меллорс разработал ряд объективных методов различения раковых клеток по интенсивности их люминесценции [64].

ЛИТЕРАТУРА к гл. XVIII

1. A. Köhler, Z. wiss. Mikrosk. 21, 129, 273 (1904).
- 1a. М. Цвет, Ber. Dtsch. Bot. Ges. 29, 744 (1911).
2. M. Haitinger, Z. wiss. Mikroskopie 50, 195 (1933).
3. S. Strugger, Jenaische Ztschr. Naturwiss. 73, 97 (1940).
4. A. H. Coons, H. J. Creech, R. N. Jones and E. Berliner, J. Immunol. 45, 159 (1942); A. H. Coons and M. H. Kaplan, J. Experim. Medicine 91, 1 (1950); A. H. Coons, E. H. Leduc and J. M. Connolly, J. exp. Medicine 102, 49 (1955).
5. M. Haitinger, Fluoreszenzmikroskopie, ihre Anwendung in der Histologie und Chemie, Leipzig, 1938.
6. N. Schümmelfeder, K. Ebschner und E. Krogh, Naturwissenschaften 44, 467 (1957).
7. М. П. Бухман, Р. И. Полькина и Л. В. Сергеев, Ж. общей биологии 17, № 3, 239 (1956).
8. Н. А. Лихачев, Тр. Воен.-мед. акад. им. С. М. Кирова 48, 59 (1952).
9. В. Д. Арутюнов, Ж. общей биологии 17, вып. 1, 79 (1956).

10. А. В. Гуткина, В. Д. Арутюнов и Я. В. Мамуль, *Биофизика* 3, вып. 3, 362 (1958).
11. И. Н. Бирюков, *Ж. научной и прикладной фотографии и кинематографии* 1, 209 (1956).
12. М. Н. Мейсель и В. Б. Корчагин, *Бюлл. exper. биол. и медиц.* 33, вып. 3, 49 (1952).
13. М. Н. Мейсель, Е. А. Кабанова, Е. Н. Левина и М. М. Пищурина, *Изв. АН СССР, сер. биол.*, № 6, 718 (1957).
14. В. Я. Шевлягин, *Успехи совр. биологии* 45 (2), 218 (1958).
15. T. H. Weiler and A. H. Coons, *Proc. exper. biol. med.* 86, 789 (1954).
16. R. C. Mellors, *J. Histochem. and Cytochem.* 3, 284 (1955).
17. P. Hagemann, *Zbl. Bakt. 1 Abt. Orig.* 140, 184 (1937).
18. М. Н. Мейсель, А. В. Гуткина и Ю. Н. Мастюкова, *Микробиология*, № 5 (1958).
19. J. A. Armstrong and J. S. F. Niven, *Nature* 180, 1335 (1957).
20. Л. М. Гинодман, *Вопросы вирусологии* 2, 195 (1957).
21. Ch. Liu, *Proc. Soc. exp. Biol. and Medic.* 92, 883 (1956).
22. S. M. Buckley, *Arch. für gesamte Virusforschung* 6, 388 (1956).
23. H. Urbach and M. Sprössing, *Zbl. Bakt. 1 Abt. Orig.* 161, 39 (1954).
24. Ю. Н. Зубжицкий, *Лабор. дело*, № 6, 22 (1957).
25. Ch. Keller, *Wien. Med. Wschr.* 89, 329 (1939).
26. Ю. Н. Зубжицкий, *Лабор. дело*, № 2, 35 (1957).
27. M. Haitinger und Schwertner R., *Zbl. Bakt. 1 Abt. Orig.* 145, 141 (1939).
28. М. Н. Мейсель, Е. А. Кабанова, Е. Н. Левина и В. А. Страхова, *Изв. АН СССР, сер. биол.*, № 5 (1958).
29. A. M. Silverstein, *J. Histochem. and Cytochem.* 5, 94 (1957).
30. M. D. Moody, M. Godman and B. M. Thomason, *J. Bacteriol.* 72, 357, 362 (1956).
31. М. Н. Мейсель, *Изв. АН СССР, сер. физич.* 15, 788 (1951).
32. Н. А. Красильников и М. Н. Бехтерева, *Микробиология* 25, 279 (1956).
33. A. Krieg, *Zeitschr. Hyg. Infekt. Krankh.* 138, 357, 530 (1953); 139, 61, 65 (1954).
34. R. Schuler, *Arch. Protistenkunde* 99, 227 (1954).
35. E. S. Anderson, *Nature* 180, 1336 (1957).
36. М. Н. Мейсель и Н. Б. Заварзина, *Микробиология* 16, 394 (1947).
37. М. Н. Мейсель, Т. М. Кондратьева и Н. А. Помощникова, *Ж. общей биологии* 12, 312 (1951).
38. S. Struggger, *Практикум по физиологии клеток и тканей растений*, ИЛ, 1952, Москва.
39. K. Höfler, *Beiträge zur Fluoreszenzmikroskopie*, Wien, 1949; *Ber. dtsh. bot. Ges.* 66, 454 (1953).
40. S. P. Struggger, A. T. Krebs and Z. S. Gierlach, *Amer. J. Roentgenol., Radium Therapy and Nuclear Med.* 70, 365 (1953).
41. В. Я. Александров, *Труды Ботан. Ин-та АН СССР, сер. IV, вып. 10*, 309 (1955).
42. С. В. Горюнова, *Труды института микробиологии АН СССР* 2, 64 (1952).
43. H. Hamperl, *Virchows Archiv* 292, 1 (1934).
44. F. Sjöstrand, *Acta Anatomica, Suppl.* 1, 1944.
45. М. Н. Мейсель, Л. Ф. Ларионов и Т. М. Кондратьева, *ДАН СССР* 76, 723 (1951).
46. N. Schümmelfeder, *Virchows Archiv* 318, 119 (1950); N. Schümmelfeder und K.—F. Stock, *Zeitschr. Zellforschung* 44, 327 (1956).
47. L. Bertalanffy and I. Bickis, *J. Histochem. and Cytochem.* 4, 481 (1956).
48. J. A. Armstrong, *Experim. Cell Research* 11, 640 (1956).
49. A. Hirt, J. Ansonge und H. Markstahler, *Z. Anatom. Entwicklungsgesch.* 109, 1 (1939).
50. V. Hanzon, *Acta physiologica scandinavica* 28, Suppl. 101, 1—268 (1952).
51. W. Kulpe, *Virchow's Archiv* 327, 252 (1955).
52. O. Frank und V. Lachnit, *Arch. exper. Pathol. und Pharmakol.* 214, 507 (1952).
53. K. Zeiger und H. Harders, *Z. Zellforsch.* 36, 62 (1951).
54. L. G. Ortega and R. C. Mellors, *J. experim. Medicine* 104, 151 (1956).
55. A. H. Coons, *Ann. New York Academy of Sciences* 69, Art. 4, 658 (1957).
56. W. Kosenow, *Lebende Blutzellen im Fluoreszenz- und Phasenkontrastmikroskop*. Basel, S. Karger AG, 1956.
57. М. Н. Мейсель и В. А. Сондак, *Действие ионизирующих излучений на биологические объекты*, стр. 78, Изд. АН СССР, 1954.

58. Т. М. Кондратьева, ДАН СССР 111, 89 (1956).
59. Н. Н. Бобров, Архив патологии 6, 45 (1950).
60. Н. Крамер, Е. Вольмайер и Н. Пубст, Schweiz. med. Wschr. 4, 76 (1952).
61. Н. Р. Фриедман, Amer. J. Obstet. and Gynecol. 59, 852 (1950).
62. М. Н. Мейсель и А. В. Гуткина, ДАН СССР 91, 647 (1953).
63. А. В. Гуткина, Труды Всесоюз. конф. патологоанатомов 1954 г. в Ленинграде, стр. 362, Медгиз, 1956.
64. R. C. Mellors, A. Glassman and G. N. Paranicolaou, Cancer 5, 458 (1952).

Дополнительная литература

1. В. М. Бергольц, Люминесцентная микроскопия, Медгиз, 1953.
2. М. Н. Мейсель, Флуоресцентная микроскопия и ее применение в микробиологии, Микробиология 16, 527 (1947).
3. Р. Меллорс, Методы цитологического анализа, ИЛ, М., 1957.
4. Я. Сейферт, Почвоведение, № 2, 50 (1958). Использование флуоресцентной микроскопии в микробиологии почвы.
5. В. Я. Шевлягин, Успехи соврем. биологии 45, вып. 2, 218 (1958). Обнаружение антигенов с помощью флуоресцирующих антител.
6. Beiträge zur Fluoreszenzmikroskopie, Herausgegeben von F. Bräutigam und A. Grabner, Wien, 1949.
7. Н. Браунштейнер, Н. Грабнер и Ф. Пакесш, Wien. Zeitschr. Inn. Medizin 33, 276 (1952). Люминесцентная микроскопия и возможности ее использования в медицине.
8. А. Н. Соонс, International Review of Cytology 5, 1 (1956). Гистохимия с использованием меченых антител.
9. Г. Н. М. Gottschewski, Mikroskopie (Wien) 9, 147 (1954). Метод люминесцентной и ультрафиолетовой микроскопии и спектроскопии и их значение для изучения клеток.
10. М. Найтингер, Fluoreszenzmikroskopie, ihre Anwendung in der Histologie und Chemie, Leipzig, 1938.
11. Н. Намперл, Mikroskopie (Wien) 2, 153 (1947). Методы люминесцентной микроскопии.
12. Н. Майерсбах, Acta Histochemica 4, 260 (1957). Иммуногистологические методы.
13. Л. Стокinger, Zeitschr. mikr.—anat. Forsch. 59, 304 (1952). Прижизненное окрашивание акридиновым оранжевым.
14. S. Strugger, Fluoreszenzmikroskopie und Mikrobiologie, Hannover, 1949.
15. А. Х. Кунс, Распределение в тканях и клетках антигенов, введенных в организм. В сб. «Современные проблемы цитологии», ИЛ, Москва, 1955.
16. Р. Эхрлич и Н. С. Эхрмантраут, Applied Microbiology 3, 231 (1955). Определение содержания бактерий с помощью люминесцентного микроскопа.
17. В. Я. Александров и И. Н. Свешникова, Ботан. журнал 41, 206 (1956). Применение флуоресцентной микроскопии в палеоботанике.
18. L. Reiter, Protoplasma 48, 279 (1957). Прижизненное флуорохромирование вирусных включений в растениях.
19. М. И. Гольдин, ДАН СССР 95, 657 (1954). Люминесцентно-микроскопический анализ вирусных включений.
20. В. А. Яблокова, ДАН СССР 23, 329 (1939). Отношение к ультрафиолетовым лучам мицелия пыльной головки в зерне пшеницы в зависимости от состояния мицелия.
21. В. А. Яблокова, Ботанич. журнал 29, 72 (1944). Сообщение 3. Применение прижизненной и флуоресцентной микроскопии для обнаружения мицелия пыльной головки в прогретом и непрогретом зерне пшеницы.
22. В. П. Шалумович, Архив анатомии, гистологии и эмбриологии 86, № 2, 79 (1959). Описан метод заключения люминесцирующих препаратов.
23. Е. М. Брумберг, Ж. общ. биологии 16, 222 (1955). О флуоресцентных микроскопах.
24. Е. М. Брумберг, Ж. общ. биологии 17, 401 (1956). Ультрафиолетовая флуоресцентная микроскопия.

ГЛАВА XIX

ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ В СУДЕБНОЙ МЕДИЦИНЕ. СУДЕБНОЙ ХИМИИ И КРИМИНАЛИСТИКЕ

При проведении экспертиз нередко возникает необходимость выявлять ничтожно малые количества вещества. Огромная чувствительность методов люминесцентного анализа позволяет обнаруживать эти вещества проще и быстрее, чем другими методами, а в некоторых случаях обнаружение их вообще возможно лишь с помощью люминесцентного анализа.

Важно также и то, что наблюдения под ультрафиолетовыми лучами дают возможность устанавливать различие между веществами, кажущимися одинаковыми при дневном свете. На эксперте лежит большая ответственность не только перед законом, но и моральная, поэтому от экспертных заключений требуется строгая обоснованность, исключающая возможность ошибки. Необходимо, чтобы возможность применения люминесцентного анализа находила бы подтверждение в общетеоретических положениях и чтобы результаты анализов подвергались тщательному критическому разбору.

В судебно-медицинской практике люминесцентный анализ применяется при макроскопическом исследовании кожных покровов, внутренних органов и судебно-медицинских вещественных доказательств, а также при микроскопическом изучении волос, срезов органов и тканей и следов человеческих выделений.

Осмотр кожных покровов под ультрафиолетовыми лучами, дополняя осмотр в видимом свете, позволяет более отчетливо выявлять признаки, имеющие судебно-медицинское значение. Так, на беловато-сероватом фоне свечения кожи ясно обнаруживаются мало заметные при дневном свете татуировки, ссадины, кровоподтеки и рубцы, а также посторонние флуоресцирующие вещества.

Кожные рубцы различной давности люминесцируют по-разному: рубцы до 1—2 месяцев с момента бывшей травмы выглядят темными, бархатистыми; рубцы давности 4—6 месяцев светятся беловато-синим цветом с темным ободком; люминесценция рубцов давностью более года зависит от степени пигментации: при отсутствии пигментации они флуоресцируют слабо, беловато-синеватым светом, пигментированные рубцы выглядят более темными. Исследование рубцов в ультрафиолетовых лучах может быть полезным в весьма трудной экспертизе определения давности старых повреждений.

Еще мало исследованы особенности свечения внутренних органов при различных патологических состояниях. Все же установлены некоторые закономерности. По возрастанию интенсивности свечения тканей их можно расположить в следующем порядке: мышцы, фасции, сухожилия,

кости, зубы. Свечение тканей зависит от возраста, изменения свечения связывают со «старением коллоидов». По Бергольцу хрусталик глаза у детей раннего возраста люминесцирует желтовато-зеленоватым светом, после 13 лет — серовато-зеленоватым, а у взрослых после 35 лет — серовато-голубовато-беловатым.

Известна также определенная зависимость люминесценции хрящей от возраста; Тахо-Годи [9a] предложил использовать это явление при экспертизе расчлененных трупов.

Люминесценция внутренних органов в значительной мере зависит от их кровенаполнения, от степени развития соединительной ткани и отложения жира. Кровь гасит естественную флуоресценцию ткани органов, вследствие этого возможности люминесцентного анализа при осмотре внутренних органов под ультрафиолетовыми лучами значительно сужаются, особенно в случае полнокровия.

Наблюдения люминесценции органов весьма эффективны в случаях отравлений веществами, обладающими яркой флуоресценцией.

Так, при отравлении акрихином ткань печени, легких, селезенки и других внутренних органов приобретает яркое желтовато-зеленоватое свечение [1].

Большие перспективы для судебно-медицинской экспертизы имеет использование люминесцентной микроскопии, позволяющей проводить углубленные исследования с применением флуорохромирования, а также наблюдения спектров свечения и использование аналитических флуоресцентных реакций.

Так, свойство маслянистых веществ ярко люминесцировать использовано для обнаружения следов транспортной смазки, которая попадает на тело и одежду при транспортных происшествиях. Люминесцентно-микроскопическое исследование флуоресценции кожи лиц, погибших при транспортных происшествиях, позволяет выявлять желтоватые и беловато-голубоватые наложения, легко удаляемые эфиром. В области таких наложений клетки эпидермиса иногда приобретают яркую беловатую или голубоватую флуоресценцию; вероятно, это объясняется проникновением масел в глубь эпидермиса кожи.

Попадание под кожу некоторых нефтепродуктов и минеральных масел вызывает образование искусственных олеогранулем и абсцессов. Исследование биопсийского материала или гноя дает возможность выяснять по яркой флуоресценции этих веществ происхождение подкожных повреждений [2].

Люминесцентная микроскопия позволяет обнаруживать непосредственно в тканях и многие лекарственные вещества. При нагревании гистологических срезов до определенной температуры (порядка 145—200°) выявляется различие в цвете флуоресценции участков ткани, содержащих и не содержащих определяемое вещество. Хилендер [3] определял таким образом пенициллин, аскорбиновую кислоту, сернокислый атропин и другие вещества. После нагревания участки срезов поперечно-полосатой мышцы, содержащие пенициллин, начинают люминесцировать желтоватым цветом, а не содержащие его участки имеют голубовато-сероватое свечение.

Широкое распространение получило использование люминесцентного анализа при экспертизе волос и следов человеческих выделений (крови, спермы).

Волосы люминесцируют слабо. По данным Боллера [4], целесообразно применять люминесцентную микроскопию для выявления искусственно окрашенных волос. Особенно удобно проводить такие исследования на попе-

речных срезах волос. Подобным же образом можно изучать не только волосы человека, но и волосы животных при исследовании мехов.

Флуорохромирование раствором берберинсульфата (1 : 1000) дает возможность с минимальными затратами времени наблюдать особенности строения кутикулы волос.

Интенсивное свечение пятен сперм позволило Понтюсу и Хюссону [5] предложить спектрографическое исследование флуоресценции пятен спермы. Полоса свечения спермы в видимой части спектра лежит в интервале длин волн 4900—4000 Å с максимумом около 4200 Å. Максимум свечения, по мнению авторов, не зависит от предмета-носителя. В настоящее время для большей доказательности предпочитают находить в пятнах самих сперматозоидов, имеющих характерную форму, тем более, что в литературе имеются данные [6] об отсутствии флуоресценции пятен спермы при определенных состояниях предстательной железы. Обнаружение сперматозоидов в пятнах бывает нередко весьма затруднительным. Использование флуорохромирования берберинсульфатом (1 : 1000) [7], акридиновым оранжевым с трипофлавином, риванолом (1 : 100) [8] и акридиновым оранжевым с аурамином [9б] позволяет значительно быстрее устанавливать наличие сперматозоидов. Особенно красочно выявляются сперматозоиды при двойном флуорохромировании с применением акридинового оранжевого. Акридиновый оранжевый позволяет не только лучше определять наличие сперматозоидов, но при экспертизе половых состояний мужчин дифференцировать по цвету флуоресценции живых и мертвых сперматозоидов (0,1—0,001 %-ный раствор акридинового оранжевого при рН=8). Подвижные сперматозоиды при этом светятся зеленым цветом, а неподвижные—красным [10].

Одним из важных разделов судебно-медицинской экспертизы является исследование огнестрельных повреждений с целью определения входного отверстия и признаков близкого выстрела. При флуорохромировании (трипофлавином и акридиновым оранжевым 1 : 1000) целлоидиновых срезов (после удаления целлоидина гвоздичным маслом) на поверхности кожи в области входного отверстия четко выявляются зерна пороха «ВП». Порошинки светятся настолько ярко, что их можно без труда определить по своеобразной форме и наличию темной несветящейся каймы графита [11]. При микроскопии срезов входных огнестрельных отверстий, полученных на замораживающем микротоме, Крауланд [12] находил на коже несгоревшие частицы бездымного пороха, слабо флуоресцирующие синеваго-голубоватым цветом.

Предложено и другое решение той же задачи без применения люминесцентной микроскопии. Так, непосредственное наблюдение люминесценции позволило установить новый важный признак входного отверстия — наличие следов оружейной смазки [13]. Пуля, проходя через канал оружия, захватывает ничтожное количество смазки и оставляет ее у краев отверстия при встрече с преградой. Следы смазки определяются по голубоватой люминесценции. Для лучшего обнаружения их Розанов рекомендует переносить эти следы с одежды на фильтровальную бумагу каплей ацетона. Следы смазки можно также видеть и при исследовании с помощью люминесцентного микроскопа небольших вырезов ткани одежды из области входного отверстия сразу после их обработки на предметном стекле каплей ацетона.

В. В. Козлов [14] предложил для определения следов оружейной смазки экстрагировать их эфиром. Если стрельба производилась из одного оружия, то, сравнивая яркость люминесценции вытяжек, можно установ

ливать последовательность выстрелов (1-й, 2-й, 3-й). Установление последовательности выстрелов другими методами исследования очень сложно, обычно не столь убедительно, а в большинстве случаев и невозможно.

Особый интерес представляет использование наблюдений люминесценции для обнаружения следов крови.

В тридцатых годах Шпект [15] рекомендовал использовать для этого хемилюминесценцию гидрозида 3-аминофталевой кислоты, возникающую в присутствии перекиси водорода и ферментов крови. При опрыскивании предметов раствором гидрозида 3-аминофталевой кислоты (1 часть светящегося вещества, 5 частей соды, 15 мл 3%-ной перекиси водорода на 100 мл дистиллированной воды) в темноте наблюдается яркая флуоресценция голубоватого цвета в тех местах, где остались следы крови.

В качестве доказательной пробы на кровь весьма целесообразно применять флуоресцентную реакцию с концентрированной серной кислотой. При действии на частицы крови указанной кислоты возникают глыбки гематопорфирина, обладающего флуоресценцией яркого оранжево-красного цвета. Люминесцентный микроскоп позволяет обнаруживать этим путем микроскопические частицы гематопорфирина (диаметром 7—10 мк). Исключительно большая чувствительность позволяет экономить материал пятен крови для дальнейших исследований — определения вида, группы, типа крови, а также позволяет исследовать застиранные пятна крови на одежде [16].

Некоторые считают, что данная реакция неспецифична для крови, так как красную флуоресценцию имеют и другие вещества. Однако такое соображение неправильно: оно не учитывает хода флуоресцентной реакции; в самом деле, флуоресценция вначале отсутствует и оранжево-красное свечение появляется только после добавления определенного реактива (серной кислоты); такая реакция строго специфична. У вещества, обладающего способностью светиться красным светом, люминесценция наблюдается без каких-либо дополнительных реакций. Синтетические красители при воздействии концентрированной серной кислотой разрушаются. Соединения, родственные гемоглобину, — дыхательные ферменты, очень сильно распылены в растениях и не дают подобной реакции. Хлорофилл и его производные светятся в ультрафиолетовых лучах карминово-красным цветом, отличающимся от цвета свечения гематопорфирина.

В дополнение к люминесцентной реакции можно проводить микроспектроскопические исследования флуоресценции гематопорфирина (спектрографические исследования обычно почти невозможны из-за ничтожного количества исследуемого вещества). Гематопорфирин в кислой среде дает полосу свечения 590—650 мк, в щелочной — 625 — 675 мк.

Кроме концентрированной серной кислоты, для получения из крови гематопорфирина были предложены и другие реактивы: тиогликолевая кислота [17], гипосульфит натрия в сочетании с ледяной уксусной кислотой и др.

К сожалению, в судебно-химической практике люминесцентный анализ еще не завоевал всеобщего признания, и в судебно-химической экспертизе люминесцентные методы анализа пока предложены для обнаружения лишь ограниченного числа веществ.

Костяковой [18] была разработана методика обнаружения в биологическом материале хинина, риванола и акрихина по цвету флуоресценции этих веществ в водных растворах. Методика извлечения хинина, риванола и акрихина из биологического материала довольно проста. Измельченный материал сначала подкисляется щавелевой кислотой и заливается 96°-ным

этиловым спиртом. Затем все алкалоиды извлекаются хлороформом, а из последнего — подкисленной водой (обычный судебно-химический метод). Исследованию под ультрафиолетовыми лучами подвергается только отдельный водный слой.

Хинин люминесцирует голубым светом. Для большей обоснованности результатов исследования желательно проведение дополнительной пробы с бромной водой и последующим подщелачиванием 25 %-ным раствором аммиака. При этом хинин начинает светиться желтовато-зеленоватым цветом. Для обнаружения риванола и акрихина следует отлить кислый водный слой в две пробирки, в одну из которых добавляется щелочь. Риванол и акрихин светятся сходным желтовато-зеленоватым цветом. Однако максимум интенсивности свечения наблюдается у риванола в кислой среде, а у акрихина — в щелочной. Чувствительность этих проб порядка $1 \cdot 10^{-8}$ — $1 \cdot 10^{-7}$ г/мл.

Установив, что у риванола и акрихина яркость пропорциональна концентрации в пределах $1 \cdot 10^{-4}$ — $1 \cdot 10^{-7}$ г/мл, Костякова предложила количественный метод определения этих веществ путем сравнения анализируемого раствора с эталонами риванола в кислой среде, а акрихина — в щелочной (см. гл. III, стр. 37).

Для судебно-химических токсикологических исследований очень важно устанавливать различие между птомаинами и алкалоидами. Бошняков [19] рекомендует для этой цели использовать люминесценцию. По его наблюдению растворы 0,5—1,0% солей морфия при облучении ультрафиолетовыми лучами выглядят грязно-зелеными, растворы пантопона — коричнево-зелеными, растворы опиума — зеленовато-бурыми, раствор стрихнина — светло-синим. Растворы птомаинов при облучении выглядят мутными с бледно-голубыми тонами, люминесценция усиливается по мере увеличения концентрации.

Следует отметить, что, к сожалению, в судебной химии еще не нашли применения многие качественные флуоресцентные реакции, обладающие достаточной специфичностью и большой чувствительностью.

В противоположность судебно-химической практике, где применим только химический люминесцентный анализ, в криминалистической экспертизе широко используют «сортовой» люминесцентный анализ, чаще всего в форме простейшего его приема — визуального осмотра документов в ультрафиолетовых лучах [20].

Несмотря на свою простоту, прием этот позволяет выявлять следы травления, следы удаленного текста и частицы крахмала на местах перенесенного оттиска печати, позволяет обнаруживать тайнопись, а также следы клея и почтового штемпеля, не заметные при наблюдении в видимом свете, и т. д. Разумеется, ненахождение при таком осмотре подделок или иных следов не может дать уверенности в их отсутствии.

Очень важно, что подобные исследования не требуют много времени, а также, что их можно проводить, не нарушая целостности документа и с помощью простой аппаратуры. Аналогичные исследования проводят для выявления фальсификации пищевых продуктов (добавления в сливочное масло маргарина, в растительное — минерального и т. д.).

Люминесценция картин при возбуждении ультрафиолетовым светом позволяет в некоторых случаях устанавливать автора картины или следы реставрации, что может оказаться существенным при экспертизе картин. Так, на основании наблюдений люминесценции картины «Бурное море», выдаваемой за картину Айвазовского, Сальков [21] нашел ниже подписи якобы Айвазовского подпись другого автора, не заметную при дневном

свете. Интересен и другой случай: на картине, в отношении которой было под сомнением авторство Рубенса, Бейль [22] обнаружил светящиеся линии его подписи.

Небезынтересно применение в криминалистике метода метки вещей и хранилищ порошками с целью выявления хищений. Значительное разнообразие веществ, способных флуоресцировать ярким светом, позволяет подбирать порошки, которые, будучи нанесены на предметы, остаются незаметными. Между тем под ультрафиолетовыми лучами они легко определяются и на вещах, и на руках человека, с ними соприкасавшегося.

Для целей криминалистической идентификации осмотр в ультрафиолетовом свете может быть использован главным образом в тех случаях, когда количество сравниваемых объектов ограничено. Так, при выявлении дописок и вставок внесенные исправления обнаруживаются по различию в цвете и яркости свечения отдельных определенных штрихов или слов по сравнению с остальным текстом. Однако не следует забывать, что для целей идентификации предметов и красителей, находившихся до этого в различных условиях хранения, метод люминесцентного анализа имеет относительное значение, так как внешние условия (особенно солнечный свет) сильно влияют на флуоресцентные свойства веществ. Отметим, что в некоторых случаях факт этот сам по себе может представлять интерес.

Б. Р. Киричинский [23] предложил при сравнении веществ использовать не только флуоресценцию, но и фосфоресценцию, например, бумаги, штрихов красителя, и применил для этого сконструированный им люминескоп.

Ряд приемов люминесцентного анализа помогает восстановлению в документах текста, неразличимого при обычном освещении. К таким приемам относятся использование растворов флуорохромов (для чтения залитых текстов) [24], порошкообразных флуорохромов с целью восстановления палимпсестов [25], а также наблюдений инфракрасной люминесценции.

Следует остановиться на последнем методе. Лазарев и Эрастов [26] предложили исследовать угасшие тексты, выполненные анилиновыми красителями, с помощью фотографирования инфракрасной люминесценции. Объекты исследования фотографируются при их освещении светом, содержащим все лучи видимого спектра, кроме красных и инфракрасных. Красный свет поглощается фильтрами СЗС-10 или жидкими фильтрами с раствором медного купороса. Фотографирование производится через фильтр, пропускающий только инфракрасные лучи (фильтр ФС-7 и КС-19), т. е. используется принцип скрещенных светофильтров (см. стр. 88). В этом методе применяется фотоматериал, sensibilizированный к инфракрасным лучам *). Подобные исследования выявляют угасшие тексты, совершенно невидимые или едва видимые глазом. Заслуживает внимания, что инфракрасная люминесценция довольно распространена в природе, она характерна не только для многих чернил, содержащих органические красители, но и для алмазов, некоторых минералов, хлорофилла, желтой окиси ртути, цианина, бромистой ртути и т. д.

Н. М. Зюскин [27] предложил использовать явление флуоресценции в дальней красной и ближней инфракрасной части спектра в сочетании

*) Укажем на возможность вместо фотоматериалов, sensibilizированных к инфракрасным лучам, использовать обычные фотоматериалы, снабженные тонкими слоями чувствительных к инфракрасному свету кристаллофосфоров [28, 29]. Изображение фотографируемого объекта в инфракрасном свете вызывает видимое свечение прижатого к фотопластинке фосфорного слоя, которое ею и регистрируется.

с хроматографированием (на фильтровальных бумажках) для изучения веществ, в частности красителей, применяемых в чернилах и карандашах.

Трудно охватить все аспекты возможного применения люминесцентного анализа в экспертизе, особенно учитывая многообразие объектов исследования. Однако именно разнообразие объектов позволяет широко использовать в судебной медицине, в судебной химии и криминалистике сведения из различных областей знания, а также методы исследования, применяемые в других дисциплинах.

ЛИТЕРАТУРА к гл. XIX

1. М. М. Хаит, А. Д. Старчевская, Материалы III расширенной научной конференции Киевского отд. Украинского общества судебн. медиц. и криминалистики, Госмедиздат УССР, Киев, стр. 80—81, 1958.
2. Т. М. Уткина, Диссертация, Горький, 1955. Горьковский мед. инст. им. Кирова.
3. S. Helander, Acta Physiol. Scand. 10, Suppl. 29, 1 (1945); Nature 155, 109 (1945).
4. W. Boller, Archiv für Kriminologie 100, 8, 207, 264 (1937).
5. P. Pontus et A. Husson, Com. Rend. Biologie CXVI, № 24, 538 (1937).
6. Коорманн, Archiv für Kriminologie 113, №№ 3, 4, 53 (1943).
7. В. Н. Виноградов, А. К. Туманов, Сборник рефератов, докладов расширенной научной конференции Харьковск. обл. научн. общества судебных медиков и криминалистов, стр. 109, Харьков, 1956.
8. Ю. М. Кубицкий, Х. М. Тахо-Годи, Материалы III Всесоюзного совещания судебно-медицинских экспертов и III Всесоюзной конференции Научн. общества судебных медиков и криминалистов, стр. 189, Рига, 1957.
9. Х. М. Тахо-Годи, а) Материалы III Всесоюзного совещания судебно-медицинских экспертов и III Всесоюзной конференции Научн. общества судебных медиков и криминалистов, стр. 27, Рига, 1957; б) Суд.-мед. экспертиза 3, 27 (1958).
10. L. Stöckinger, Mikroskopie, № 4, 53 (1949).
11. В. Н. Виноградов, Материалы III Всесоюзного совещания судебно-медицинских экспертов и III Всесоюзной конференции Научн. общества судебных медиков и криминалистов, стр. 188, Рига, 1957.
12. K. Gauland, Deutsch. Z. gew. ger. Med. 44, 442 (1955).
13. Б. И. Вахлис и Б. Р. Киричинский, Криминалистика и научно-судебная экспертиза, Сб. III, 87, Киев, 1949; Б. М. Розанов, Труды ВМА им. С. М. Кирова 53, 249 (1952).
14. В. В. Козлов, Сборник статей и рефератов Саратовского отделения Всесоюзного научн. общества судебных медиков и криминалистов, стр. 28, Саратов, 1955.
15. W. Sprech, Angewandte Chemie 50, № 8 (1937).
16. В. Н. Виноградов, Рефераты докладов IX расширенной конференции Ленинградского отделения ВНОСМК и научной сессии Ин-та судебной медицины, стр. 14, Минздрав СССР, Ленинград, 1955.
17. G. Dotzauer und G. Keding, Deutsch. Zs. f. d. Med. 44, 550 (1955).
18. И. А. Костякова, Ж. анал. хим. 2, № 1, 27 (1947); Ж. анал. хим. 6, 251 (1951).
19. А. Н. Бошняков, Военно-медицинский журнал, № 1, 75 (1953).
20. Н. В. Терзиев, Б. Р. Киричинский, А. А. Эйсмэн, Е. Б. Геркен, Физические исследования в криминалистике, стр. 111, Юриздат, М., 1948.
21. А. А. Сальков, Суд.-мед. эксперт., № 7 (1928).
22. Э. Бейль, Р. Фабр, А. Жорж, Суд.-мед. эксперт., № 8 (1928).
23. Б. Р. Киричинский, Криминалистика и научно-судебная экспертиза, Сб. III, стр. 81, 1949, Киев.
24. М. В. Салтевский, Криминалистика и научно-судебная экспертиза, Киев, сб. III, стр. 82, 1949.
25. P. R. Kögel, Die Palimpsestphotographie, Verl. W. Knapp. Halle. 1920.
26. Д. Н. Лазарев и Д. П. Эрастов, Материалы IV совещания по люминесценции, 8, 1956, Минск.
27. Н. М. Зюскин, Материалы III расширенной научной конференции Киевского отд. Общества судебн. медиц. и криминал., стр. 107, Госмедиздат УССР, Киев, 1958.
28. Э. Л. Моргенштерн, ДАН СССР 74, 493 (1950).
29. Л. А. Винокуров, ЖЭТФ 21, 338 (1951).

ПОЛЯРИЗАЦИЯ ЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ И ВОЗМОЖНОСТИ ЕЕ ПРИМЕНЕНИЯ В ЛЮМИНЕСЦЕНТНОМ АНАЛИЗЕ

1. Поляризация люминесценции

Люминесценция может быть как естественной, так и поляризованной (полностью или частично). Поляризация люминесценции обнаружена у различных веществ в твердом, жидком и газообразном состоянии.

Молекулы, из которых состоит люминесцирующее вещество, как правило, оптически анизотропны, т. е. по разным направлениям они обладают разными оптическими свойствами и на них по-разному действует электрический вектор возбуждающего света. При некоторых направлениях электрического вектора свет поглощается молекулой, при других — не поглощается. Соответственно и электрический вектор света люминесценции, испускаемого такой молекулой, тоже имеет определенное направление, т. е. люминесценция поляризована. Эти направления в молекуле, зависящие от ее структуры, называют направлениями поглощающих и излучающих осцилляторов.

Если анизотропные молекулы в веществе ориентированы хаотично (как, например, в растворе), то вещество в целом изотропно; люминесценция в этом случае неполяризована, если ее возбуждать естественным светом в том же направлении, в каком ведутся наблюдения.

Иное дело в ориентированных средах, в которых молекулы расположены упорядоченно. Примерами таких сред могут служить кристаллы органических веществ, в которых отдельные молекулы ориентированы в решетке, растянутые пленки и волокна, в которых молекулы ориентированы растяжением, и т. д. В большинстве случаев ориентация молекул при этом не полная, а только частичная, но она достаточна для того, чтобы люминесценция была поляризованной.

Поляризованную люминесценцию можно наблюдать и в изотропных средах, если возбуждать ее поляризованным светом (см. рис. 83). Линейно поляризованный свет поглощают преимущественно те молекулы, которые расположены так, что у них осциллятор поглощения A_1 параллелен электрическому вектору падающего света E_v , и совсем не поглощают те, у которых осциллятор поглощения A_2 перпендикулярен к этому вектору. Молекулы, ориентированные промежуточным образом (A_3), обладают и некоторой промежуточной вероятностью поглощения. Таким образом, в результате окажутся возбужденными молекулы с некоторой преимущественной ориентацией, а следовательно флуоресценция должна быть поляризованной, т. е. ее электрический вектор $E_{\text{л}}$ должен иметь преимущественное направ-

ление. Как видно из рисунка 83, это направление совпадает с направлением поляризации возбуждающего света.

Как известно, молекулы в растворе находятся в непрерывном хаотическом движении. Если за время пребывания в возбужденном состоянии молекулы не успеют повернуться на значительный угол, то приобретенная анизотропия раствора не будет утрачена. Поэтому очевидно, что поляризация флуоресценции должна иметь место только у вязких растворов и должна существенно зависеть от вязкости.

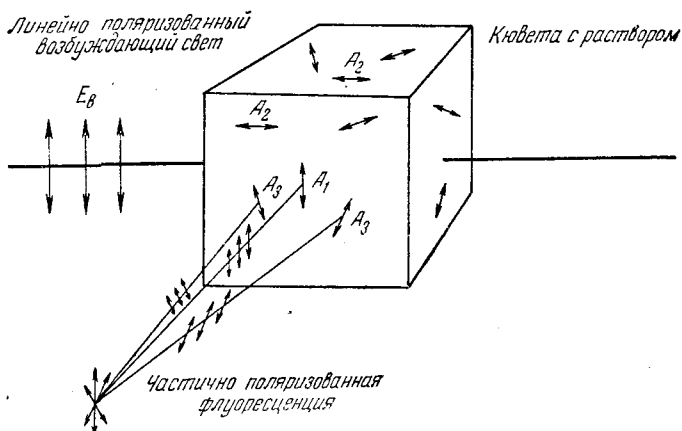


Рис. 83. Схема получения частично поляризованной флуоресценции раствора при возбуждении поляризованным светом.

На поляризацию флуоресценции существенное влияние может оказать также взаимодействие между молекулами, например широко распространенный и очень важный процесс передачи энергии возбуждения от возбужденной молекулы к невозбужденной («миграция энергии»). В частности, этот процесс играет, по-видимому, большую роль во многих биологических явлениях. Очевидно, что в неориентированных средах, а также в средах с различной ориентацией молекул такой процесс неизбежно должен привести к деполаризации флуоресценции (частичной или даже полной), так как передача энергии происходит к молекуле с иной ориентацией, чем у исходной.

Поляризованная люминесценция в растворах может наблюдаться при возбуждении не только поляризованным, но и естественным светом. Наибольшая поляризация имеет место, если наблюдение ведется в направлении, перпендикулярном к направлению возбуждающего пучка света. Флуоресценция в этом случае частично поляризована в направлении, перпендикулярном к возбуждающему пучку, так как в этом случае наблюдаемая флуоресценция преимущественно возбуждается компонентой электрического вектора возбуждающего света, которая перпендикулярна к направлению наблюдения.

Каковы возможности применения поляризованной люминесценции как метода люминесцентного анализа?

С. И. Вавилов [1] считает поляризацию одной из важнейших и специфических характеристик люминесценции. Поляризация тесно связана со структурой излучающих молекул в растворах или кристаллах и может служить методом исследования как структуры молекул, так и строения

кристаллических решеток. Вместе с тем поляризация зависит от ряда свойств среды, в которой находится излучающая молекула (например, от вязкости), и может быть использована для их изучения.

Раньше чем перейти к применениям поляризованной люминесценции, необходимо кратко остановиться на методах ее измерения.

2. Методы измерения поляризации люминесценции *)

За количественную меру поляризации люминесценции естественно принять «степень поляризации»

$$P = \frac{I_1 - I_2}{I_1 + I_2},$$

выражающую относительное преобладание одной из компонент над другой, где I_1 и I_2 — интенсивности двух компонент люминесценции, поляризованных взаимно перпендикулярно. В поляризованном свете всегда имеется

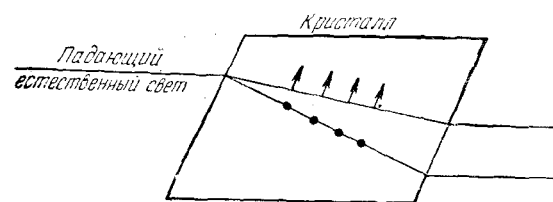


Рис. 84. Двойное лучепреломление.

направление преимущественных колебаний. Его можно выбрать за направление 1, а перпендикулярное ему — за направление 2. При другом выборе координат за направление 1 принимают направление колебаний электрического вектора возбуждающего света, а за направление

2 — перпендикулярное к нему. В первом случае степень поляризации всегда будет положительной, во втором может быть как положительной, так и отрицательной.

Для измерения абсолютных или относительных значений I_1 и I_2 необходимо разделить в потоке света две его взаимно перпендикулярно поляризованные компоненты, и в этом заключается основная экспериментальная задача. Разделение осуществляется с помощью поляризационных призм или поляроидов, которые и являются основными частями всякого поляризационного прибора. Поляризационные призмы делаются из двоякопреломляющих кристаллов (чаще всего применяются кварц и исландский шпат), т. е. из кристаллов, в которых луч света раздваивается, причем оба преломленных луча линейно поляризованы во взаимно перпендикулярных плоскостях (рис. 84).

Таким образом, компоненты с разной поляризацией оказываются разделенными в пространстве. Технически поляризационные призмы могут быть выполнены в двух вариантах: в них или разделяют два поляризованных по-разному луча, используя то, что они выходят из призмы под довольно большим углом друг к другу (например, призма Волластона, рис. 85), или совсем исключают один из лучей в результате полного внутреннего отражения его от промежуточного слоя, коэффициент преломления которого имеет промежуточное значение между коэффициентами преломления обоих лучей, и получают линейно поляризованный свет (например, призма Николя, рис. 86).

*) О методике поляризационных измерений см., например, [2], [5].

Подробности устройств таких призм и работы с ними можно найти в специальной литературе [3—5].

Для получения поляризованного света применяются также поляроиды — пленки или пластинки, которые прозрачны для одного направления электрического вектора проходящего света и непрозрачны для другого, ему перпендикулярного. Преимущество поляроидов — их относительная дешевизна.

Приборы для измерения степени поляризации называют поляриметрами. Они могут быть визуальными и фотоэлектрическими. Среди визуальных наиболее распространены два типа — Корню и Савара.

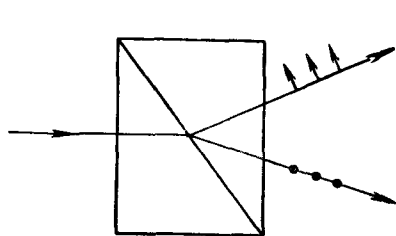


Рис. 85. Призма Волластона.

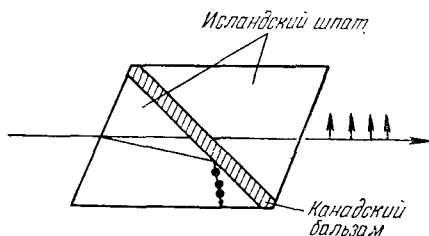


Рис. 86. Призма Николя.

Главными частями поляриметра Корню являются призма Волластона и николю. Поток света, пройдя через призму Волластона, разделяется на два взаимно перпендикулярно поляризованные потока. Если падающий свет хотя бы частично поляризован, то интенсивность двух полученных потоков будет различной. Далее оба потока проходят через николю. Николю ориентируется так, чтобы для обоих потоков A_1 и A_2 , пропускаемых николю, были равны проекции A_1^x и A_2^x электрических векторов на направление колебаний N (рис. 87), тем самым интенсивности обоих потоков уравниваются.

Как видно из рисунка,

$$\operatorname{tg} \varphi = \frac{A_2}{A_1};$$

отношение интенсивностей

$$\frac{I_2}{I_1} = \operatorname{tg}^2 \varphi,$$

откуда степень поляризации

$$P = \frac{I_1 - I_2}{I_1 + I_2} = \frac{1 - \operatorname{tg}^2 \varphi}{1 + \operatorname{tg}^2 \varphi} = \cos 2\varphi.$$

Именно угол 2φ и удобно измерять на опыте — это угол поворота николя между двумя положениями с равной интенсивностью обоих потоков.

Главные части другого распространенного прибора — полярископа Савара — это николю и комбинация из двух пластинок кристаллического кварца, ориентированных специальным образом. Если пропускать сквозь эту систему — пластинку Савара и николю — поляризованный свет,

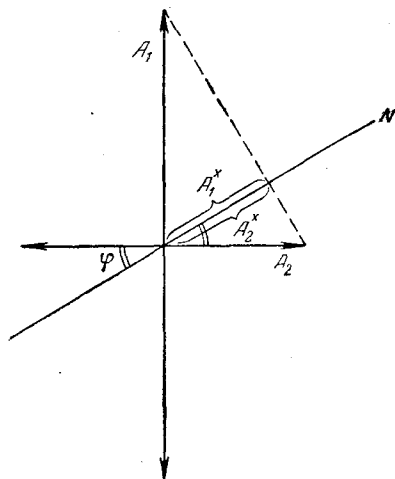


Рис. 87. Схема, поясняющая принцип действия поляриметра Корню.

то будет видна интерференционная картина *). По наличию интерференции можно обнаружить даже небольшую степень поляризации. Однако измерить ее с помощью одного этого прибора невозможно. Для измерения необходим какой-нибудь компенсатор. На пути поляризованного света помещают деполаризующее устройство (например, стопу стеклянных пластинок), которое дает поляризацию противоположного знака. Поворачивая стопу и тем самым меняя ее поляризирующее действие, можно скомпенсировать поляризацию падающего света. Интерференционная картина в полярископе при этом исчезает. Таким компенсатором можно измерять степень поляризации любого светового потока. Предварительно необходимо градуировать его по ряду источников с известной поляризацией. Проще всего для градуировки употреблять свет обычной лампы, пропуская его через николь, ориентацию которого при этом меняют. Подробности градуировки и проверки градуировки компенсаторов содержатся в работе [27].

Существенное усовершенствование полярископа Савара предложил Каврайский [6]. Прибор Каврайского имеет ряд преимуществ, и в последнее время им стали пользоваться, в частности, и для исследования поляризации люминесценции.

Точность визуальных методов определения степени поляризации ограничивается контрастной чувствительностью глаза, т. е. способностью замечать различие интенсивностей при малых освещенностях. Если мала интенсивность света или мала степень поляризации, а также, если спектр свечения расположен в синей или фиолетовой части спектра, где мала чувствительность глаза, в этих случаях визуальные методы дают большие ошибки, а в ультрафиолетовой области, разумеется, совсем неприменимы.

Даже при значительной яркости флуоресценции при измерении малой степени поляризации ошибка может быть весьма большой. Так, при $P=0,05$ относительная ошибка $\frac{\Delta P}{P}$ достигает 15%, а при $P=0,02$ — 37%. Если же интенсивность мала, то ошибки могут быть много больше, даже при значительной степени поляризации.

Поэтому в последнее время начали применять фотоэлектрические методы измерения поляризации.

Приемниками света в таких методах служат фотоэлементы или фотоэлектронные умножители. Перед входом приемника помещается поляризирующее устройство (призма Николя или поляроид); оно ориентируется вначале так, чтобы электрический вектор пропускаемого света имел определенное (в большинстве случаев — вертикальное) направление, а затем поворачивается на 90° (электрический вектор становится горизонтальным). Показания приемника при этих двух положениях николя соответственно равны I_1 и I_2 . Удобнее с помощью двупреломляющей призмы (например, призмы Волластона) разделить в пространстве взаимно перпендикулярно поляризованные компоненты светового потока и одновременно подавать их на два фотоумножителя. Необходимо при этом тщательно корректировать или учитывать различную чувствительность и другие свойства приемников. В последнее время описан ряд установок такого типа [6а, 6б]. При измерении слабых световых потоков сигнал с фотоумножителя подает-

*) Интерференционная картина — система чередующихся светлых и темных полос — является результатом наложения световых волн с постоянной во времени разностью фаз. В тех точках картины, где волны совпадают по фазе, они усиливают друг друга (светлая полоса), а там, где они находятся в противофазе, они взаимно гасятся (темная полоса).

ся на усилитель, а затем уже на измерительный прибор. Чтобы перейти к усилителям переменного тока, отличающимся большей стабильностью в работе, пользуются различными методами модуляции интенсивности поляризованного светового потока [7]. Для этого на пути светового потока ставится вращающийся поляроид. Если свет поляризован, то интенсивность его будет периодически меняться, модулироваться, и глубина модуляции будет зависеть от степени поляризации. Этот переменный световой поток падает на приемник (например, фотоумножитель) и дает переменный ток, который затем усиливается и измеряется.

По измеренной глубине модуляции можно судить о степени поляризации света. Можно пользоваться также и методом компенсации. При большой чувствительности фотоумножителя и хорошем усилении установка может обладать высокой чувствительностью и точностью. В качестве модуляторов, кроме вращающегося поляроида, можно использовать и другие устройства, подробности и преимущества которых можно найти в специальных статьях [8, 9, 16].

3. Использование метода предельной поляризации

Как уже указывалось, поляризация флуоресценции раствора зависит от того, насколько за время между моментами возбуждения и излучения успевают повернуться молекулы вокруг своих осей вследствие хаотического вращательного движения.

Следовательно, поляризация определяется, с одной стороны, временем жизни возбужденного состояния τ , а с другой — вязкостью и температурой раствора, объемом и формой молекул. Если среднее время вращательной релаксации молекул (т. е. среднее время поворота на 90°) равно или меньше τ , то флуоресценция полностью деполаризована. Максимальная (предельная) поляризация имела бы место при полном отсутствии броуновского движения.

Применение законов гидродинамики и теории броуновского движения к случаю сферической модели молекулы приводит к следующей формуле, связывающей степень поляризации P флуоресценции с указанными выше параметрами [25, 26]:

$$\frac{1}{P} = \frac{1}{P_0} + \left(\frac{1}{P_0} - \frac{1}{3} \right) \frac{kT}{v\eta} \tau, \quad (1)$$

где k — постоянная Больцмана, v — молекулярный объем, η — коэффициент вязкости, T — температура, P_0 — предельное значение поляризации, соответствующее случаю отсутствия броуновского вращения (очень низкие температуры или очень большие вязкости, $\frac{T}{\eta} \rightarrow 0$).

В пятидесятых годах Вебер [27] развил теорию и для случая молекул эллипсоидальной формы. Полученные им формулы значительно более громоздки. В работах, использующих предельную поляризацию, часто ограничиваются сферической моделью.

Формула (1) дает линейную зависимость $\frac{1}{P}$ от $\frac{T}{\eta}$ и хорошо согласуется с экспериментальными данными (см., например, [28]). В опытах всегда учитывается изменение вязкости с температурой. Отрезок, отсекаемый на оси ординат, как следует из формулы (1), равен обратной величине предельной степени поляризации $\frac{1}{P_0}$. Тангенс угла наклона прямой

графика равен:

$$\operatorname{tg} \varphi = \left(\frac{1}{P_0} - \frac{1}{3} \right) \frac{k\tau}{v}.$$

Отсюда можно определить объем молекулы, если известно время жизни возбужденного состояния τ (и, наоборот, зная v , можно найти τ). Надо отметить, что в этих опытах интервал изменения температуры T не должен захватывать области температурного тушения, так как последнее связано с изменением τ и это должно отразиться на поляризации. В настоящее время имеются прямые, достаточно надежные и точные «флуорометрические» методы измерения τ (величина τ в случае молекулярного свечения порядка 10^{-9} сек.) (см., например, [51]). Измеряя этими независимыми методами τ , можно получать данные о молекулярных объемах.

В последние годы появился ряд работ, в которых метод предельной поляризации использован для решения различных научных и научно-прикладных задач. Кратко остановимся на них.

Брехбулер и Магат [29] исследовали поляризацию флуоресценции полистирола, молекулы которого имели на концах флуоресцирующую группу 1,2-диметил-5,6-бензакридина. Вышеописанным методом они нашли объем концевых групп цепи полистирола, которые участвуют в броуновском вращении и на которых закреплены флуоресцирующие молекулы. Объем оказался равным $v = (490 \pm 100) \text{ см}^3$ (в грамм-молекулярном выражении). Из этого объема около 250 см^3 приходится на долю самой флуоресцирующей молекулы 1,2-диметил-5,6-бензакридина. Остаток составляет примерно удвоенный объем элементарной ячейки цепи полистирола*) ($v = 115 \text{ см}^3$). Авторы приходят к выводу, что в растворе испытывают броуновское вращение только концы полистирольных цепей и во вращении участвуют не более одного-двух элементов цепи макромолекулы полистирола.

Синглетерри и Вайнбергер [30] применили метод предельной поляризации к определению объемов коллоидных частиц ксенилстеарата кальция в бензоле. Сами коллоидные частицы не флуоресцируют, поэтому в раствор вводился флуоресцентный краситель родамин В, молекулы которого адсорбировались на коллоидных частицах. Объем v , рассчитанный по формуле (1), дает в этом случае объем коллоидной частицы, так как именно ее вращением обуславливается броуновское вращение адсорбированной флуоресцирующей молекулы красителя. Выход флуоресценции родамина В в адсорбированном состоянии, как показали измерения, меньше, чем в спиртовом растворе, следовательно, меньше и время жизни возбужденного состояния τ . Величина τ была пересчитана из флуорометрических измерений спиртовых растворов родамина В по закону:

$$\frac{\tau_1}{B_1} = \frac{\tau}{B};$$

где τ_1 , B_1 **) — время жизни возбужденного состояния и выход в растворе, а τ и B — то же в коллоидной фазе.

*) Формула элементарной ячейки цепи полистирола

$$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ | \quad | \\ -\text{C}-\text{C}- \\ | \quad | \\ \text{O} \quad \text{H} \end{array}$$

**) Поскольку η является общепринятым обозначением для коэффициента вязкости, здесь для выхода принято обозначение B (а не η , как в других главах в соответствии с ГОСТ 7601—55).

Определенные таким способом значения θ сопоставлены с данными, полученными по осмотическому давлению. Результаты совпадают с точностью \sim до 10%. Авторы считают, что предлагаемый метод определения размеров коллоидных частиц может быть использован для растворов весьма малой концентрации, где неприменимы осмометрические, вискозиметрические и нефелометрические методы.

Большой интерес представляют работы, появившиеся в последние годы, в которых метод поляризованной флуоресценции применен к исследованию белков и других биологических и биохимических объектов. Среди них особого внимания заслуживают работы Вебера. В первой из них [27] проведены теоретические расчеты деполяризации люминесценции для случая эллипсоидальных молекул, у которых имеются три разных характеристических времени вращательной релаксации, соответствующих трем осям эллипсоида. Эти расчеты учитывают хаотичность ориентации излучающих осцилляторов относительно осей молекул. Последнее существенно во всех случаях, когда флуоресцируют молекулы, связанные с крупными нефлуоресцирующими частицами. Кроме этого, расчеты учитывают также и ту деполяризацию, которая обуславливается колебаниями осцилляторов в молекуле, а также возможность присутствия в растворе нескольких флуоресцирующих компонентов.

В работе тщательно проанализированы возможные экспериментальные ошибки и способы их устранения, в частности предложен оригинальный метод проверки градуировки компонентов.

В других работах [31] Вебер применяет эту разработанную им методику к исследованию протеинов — яичного и сывороточного (ovalbumin и serum albumin). Макромолекулы протеинов вследствие своих значительных размеров имеют настолько большое время вращательной релаксации, что флуоресценция должна иметь значительную поляризацию даже в маловязких, например водных, растворах. Однако сами протеины не флуоресцируют, и для того, чтобы применить методы, о которых идет речь, необходимо «метить» молекулы протеинов маленькими молекулами флуоресцирующего вещества (как это сделал Синглетерри с коллоидными частицами).

Этого можно достигнуть одним из следующих способов:

1) связыванием малых молекул ковалентной связью с последующим удалением из раствора флуоресцирующих молекул, оставшихся несвязанными, обычными методами очищения протеинов;

2) адсорбцией флуоресцирующих молекул на протеине, также с последующим удалением тем или иным способом несвязанных молекул, если бы таковые оставались;

3) можно, наконец, применять в качестве «метки» такие вещества, которые флуоресцируют только в адсорбированном состоянии.

Вебер пользовался в своих работах первым способом.

Присоединение флуоресцентной молекулы не должно вызывать значительного химического изменения протеиновой молекулы, а образующиеся комплексы и их флуоресценция должны быть стабильны в значительном интервале температур и рН.

В качестве флуоресцентного вещества, отвечающего поставленным требованиям, был выбран 1-диметил-аминонафталин-5-сульфонил-хлорид.

Поляризация флуоресценции комплексов была измерена Вебером в функции температуры, и по его формулам им были определены размеры и форма протеиновых молекул. Оказалось, что молекулы овальбумина близки к сферическим, а у сывороточного альбумина они представляют эллипсоиды с отношением осей 4 : 1.

В противоположность овальбумину поляризация серум-альбумина зависит от pH среды; это связано, по-видимому, с наличием диссоциации.

Вебером исследовано также влияние на овальбумин температуры, кислот и других факторов. Наблюдаемое в ряде случаев увеличение времени релаксации вращения автор объясняет ассоциацией макромолекул, осуществляющейся, по-видимому, водородными связями. Не останавливаясь подробно на результатах этих работ, важных для биохимии, отметим только, что поляризационный метод оказался весьма плодотворным.

Опубликован и ряд других работ, в которых использована методика Вебера. Лоуренс [32] применил второй из указанных методов получения комплексов и с помощью его исследовал адсорбцию молекул различных флуоресцирующих соединений (производные 1- и 2-нафтиламина, производные акридина, флуоресцеина и родамина) на белковых молекулах. Из измерений поляризации и интенсивности люминесценции свободных и адсорбированных молекул красителей он определил относительное число связанных молекул и отсюда — константу диссоциации комплексов белок — краситель. Проведя сравнительные исследования на флуоресцирующих красителях с различной структурой, автор получил ряд сведений о механизме адсорбции молекул красителей на белковых молекулах.

Тот же метод Стейнер [33] применил к исследованию приготовленных им двухкомпонентных систем:

сывороточный альбумин — лизоцим,

сывороточный альбумин — нуклеиновая кислота,

лизоцим — нуклеиновая кислота.

Флуоресцирует один из компонентов, так как только один из них оказывается меченым 1-диметил-амино-нафталин-5-сульфонил-хлоридом. Автор расширил теорию на случай двухкомпонентной и многокомпонентной системы. Изучалось взаимодействие компонентов и образование ассоциатов. Установлено, что взаимодействие значительно, когда компоненты заряжены противоположно, и оно быстро уменьшается с увеличением ионной силы.

Этим же методом Массей, Харрингтон и Хартли [34] исследовали энзимы — химотрипсин и химотрипсиноген. Для метки употреблялось то же вещество. Авторы отмечают, что работа с энзимами осложнена недостаточной стабильностью образующихся комплексов и требует ряда предосторожностей и специальных приемов. Поляризация люминесценции позволяет изучить полимеризацию энзимов с увеличением концентрации и определить число мономеров в полимере. Это число различно для различных энзимов — для химотрипсина оно составляет 4—8, для химотрипсиногена — 2, причем отдельные молекулы соединяются в последнем случае «в стык», образуя цепочку. Это следует из найденного отношения осей эллипсоида. Кроме того, у энзимов найдено новое явление, которого Вебер на белках не наблюдал, — степень поляризации меняется в зависимости от того, сколько молекул красителя связано с макромолекулой, следовательно, изменяется отношение времени вращательной релаксации ко времени жизни возбужденного состояния. Используя это явление и данные других методов (в частности, центрифугирования и изучения биохимической активности энзимов), авторы смогли подойти к вопросу о природе биохимической активности энзимов.

Приведенные примеры красноречиво свидетельствуют о плодотворности применения методов предельной поляризации люминесценции к изучению биологических и биохимических объектов и систем.

Формула (1) дает метод измерения объемов молекул в растворах (v), а также вязкостей растворителей (η). При этом измеренный объем может быть вовсе не равен истинному объему молекулы, а измеренная вязкость — макроскопической вязкости этой жидкости. Причина этого кроется в том, что молекула растворенного флуоресцирующего вещества взаимодействует с молекулами растворителя.

Результат этого взаимодействия можно себе представить как образование «сольватной оболочки» из молекул растворителя вокруг данной молекулы, что и будет соответствовать изменению объема. Но возможно и иное представление: никаких сольватных оболочек не образуется, но взаимодействие приводит к изменению микровязкости по сравнению с макроскопической вязкостью, измеряемой обычными вискозиметрическими методами.

Дело, однако, не в наглядных представлениях, а в физической природе явления. Выражаем ли мы это явление численно как изменение объема или как различие микро- и макровязкости — по существу мы имеем новый метод исследования сил взаимодействия между молекулами в растворах, исследования природы этих сил. Некоторые попытки исследований в этом направлении предпринимались.

В работе [35] измерялась поляризация люминесценции одних и тех же соединений в разных растворителях. Полученные данные об объемах в ряде случаев не согласуются с обычным представлением о сольватных оболочках как о мономолекулярном слое. В других случаях экспериментальные результаты согласуются с представлением о сольватных оболочках [35а]. Имеющийся материал еще недостаточен для обобщений, но полезность поляризационного метода и здесь несомненна.

В работе В. Л. Левшина [36] с помощью поляризации люминесценции была обнаружена «ложная вязкость» желатиновых и целлоидиновых (коллоидных) растворов различных красителей, а именно показано, что эти, кажущиеся очень вязкими, желеобразные вещества на самом деле имеют весьма малую молекулярную вязкость. Такая особенность объясняется своеобразной структурой этих веществ, состоящих в набухшем состоянии из отдельных регулярных ячеек, наполненных водой.

Нет сомнений, что в изучении вязкости различных систем, в частности биологических микрообъектов, например плазмы клеток, поляризационный метод может и должен сыграть существенную роль.

Поляризация люминесценции раствора зависит не только от свойств растворителя, о которых шла речь выше, но и в первую очередь от структуры самих молекул люминесцирующего вещества. В частности, поляризация сильно зависит от симметрии молекул: чем симметричнее (и следовательно, изотропнее) молекула, тем меньше степень поляризации.

Этот простой факт был использован венгерскими физиками [52] в люминесцентном анализе битумов. Предлагаемый ими метод основан на следующих соображениях. Образцы, взятые из поверхностных слоев почвы, могут содержать два совершенно различных вида битумов — один происходит из нефтяных залежей, расположенных глубоко под поверхностью и перешедших на поверхность в результате диффузии через слои почвы; другой образовался из различных органических веществ в самих верхних слоях, следовательно, диффузии не подвергался. Представляется вероятным, что способность диффундировать больше у симметричных молекул, чем у несимметричных. В результате первые типы битумов должны состоять из более симметричных молекул, чем вторые, а следовательно, в растворах первые будут обладать меньшей поляризацией люминесценции, чем вторые.

Авторы проверили эту гипотезу, исследовав площадь (~ 60 кв. км) с известным распределением нефтеносных участков. У образцов первого типа экспериментально установлено отсутствие поляризации, вторые же обладают поляризацией, хотя и небольшой (3—5%).

Этот метод может служить полезным дополнением к обычным приемам люминесцентного анализа в нефтяной геологии и разведке.

4. Поляризация флуоресценции частично ориентированных молекул

До сих пор речь шла об изотропных растворах флуоресцирующих молекул, где поляризация флуоресценции определяется только анизотропией возбуждения. Однако в природе существуют среды, в которых молекулы расположены не хаотично, а полностью или частично ориентированы, например волокна искусственного шелка. Молекулы можно ориентировать и различными искусственными способами: электрическим или магнитным полем, ориентацией в потоке жидкости (использование эффекта Максвелла) и др. Наиболее простым способом является изготовление анизотропных пленок, прокрашенных флуоресцирующим веществом.

Флуоресценцию и фосфоресценцию целлофановых пленок, прокрашенных в водных растворах красителей, впервые исследовали Каутский и Хирш [37]. Оказалось, что молекулы, адсорбированные упорядоченными волокнами целлофана, частично ориентированы. Поэтому такие пленки обнаруживают дихроизм, т. е. пленки по-разному поглощают свет различной поляризации, и их флуоресценция поляризована даже при естественном возбуждении («спонтанная» поляризация, подробно исследованная Феофиловым [12, 13] и другими авторами [38]).

Аналогичные пленки могут быть изготовлены и из различных других веществ (полистирол, поливиниловый спирт) с использованием не только воды, но и других растворителей (бензол, амилацетат). В процессе изготовления прокрашенную пленку можно механически растянуть, чтобы создать необходимую анизотропию [156].

Анизотропные волокна и пленки часто находят важные практические применения, кроме того, эти объекты играют большую роль в живой природе. Нет сомнения, что изучение поляризации люминесценции станет одним из важных и удобных способов их исследования, анализа и контроля. Первые, хотя и немногочисленные, попытки в этом направлении уже имеются.

Бандов в своей работе [39] указывает, что наблюдение поляризаций флуоресценции адсорбатов открывает новые возможности исследования структуры как адсорбированных молекул, так и адсорбента, а также механизма адсорбции. В частности, представляется интересным попытаться применить этот метод в люминесцентной хроматографии.

Престон и Тзиен [40, 41] уже непосредственно применили описываемый метод к практическим задачам. Они исследовали поляризацию флуоресценции окрашенных волокон искусственного шелка с целью изучения процессов крашения и выяснения структуры волокна (ориентации молекул). Авторы сопоставляли результаты измерений дихроизма, поляризации флуоресценции, двойного лучепреломления и анизотропии набухания. Выводы, полученные путем исследования этих разных свойств объектов, находятся в согласии между собой. Авторы считают, что поляризационно-люминесцентный метод для указанной цели вполне пригоден и более удобен, чем метод определения дихроизма и другие.

Аналогичные наблюдения провел Шарф [42], исследовавший люминесценцию флуорохромированных миелотропных нервных волокон. Флуоресценция окрашенных нервных волокон обнаруживает заметную поляризацию, что может служить методом исследования структуры волокон.

5. Исследование структуры и свойств кристаллов методами поляризованной люминесценции

В кристаллах отдельные излучатели ориентированы полностью и эта ориентация обуславливает поляризацию люминесценции.

Не случайно поэтому, что явление поляризованной люминесценции было впервые обнаружено именно на кристаллах более 100 лет назад Грайлихом [43].

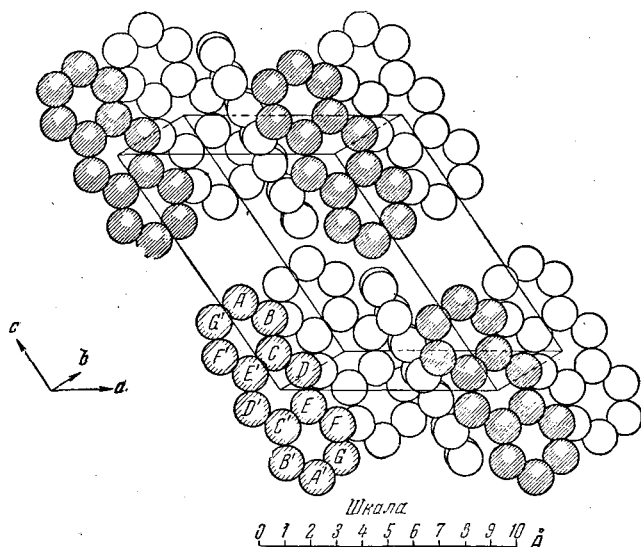


Рис. 88. Положение молекул в элементарной ячейке кристалла антрацена.

Поляризованная флуоресценция позволяет изучать не только анизотропию кристалла в целом, но и анизотропию отдельных излучателей, его составляющих, а также их взаимодействие. Эти исследования интересны как в научном отношении, так и с точки зрения возможности их использования в практике, поскольку с исследованием структур кристаллов связано решение большого числа разнообразных задач в геологии и минералогии, в биологии и т. д.

Методы поляризованной люминесценции используются при исследовании как органических, так и неорганических кристаллов.

П. П. Феофилов в большой группе работ (см. их обзор [44]) исследовал поляризацию люминесценции кубических щелочно-галлоидных кристаллов. Им разработаны методы определения ориентации центров люминесценции и получены важные данные о природе и свойствах этих центров.

Молекулярные кристаллы принадлежат к более сложным сингониям (моноклинной и др.). В большинстве таких кристаллов не все молекулы ориентированы одинаково, но имеется несколько типов ориентации (в очень многих органических кристаллах — нафталин, антрацен и т. д. — два типа ориентации молекул; рис. 88). Кроме того, в этих кристаллах необходимо

учитывать двойное преломление, которое может исказить поляризацию люминесценции.

Учитывая эти осложняющие обстоятельства, можно изучать строение решетки с помощью поляризации люминесценции, если известна ориентация излучающих осцилляторов в молекулах. Наоборот, если из независимых данных (например, рентгеноструктурных) известно строение решетки, то по поляризации люминесценции можно определить, как ориентирован осциллятор излучения в молекуле. Например, с помощью этого второго способа Кришнан и Сешан [45] впервые показали, что осциллятор излучения ароматических молекул лежит в плоскости молекулы, а Пестейль [46] определил и положение осцилляторов в молекулах ряда веществ (стильбена, аценафтена, флуорена и других).

Обратная задача — определение ориентации молекул в решетке — представляет ценность, как вспомогательный метод к рентгеноструктурному анализу, который весьма сложен и громоздок.

Возможность решения такой задачи была показана рядом авторов [47—49], причем во внимание были приняты трудности, связанные с двойным преломлением света.

Поляризация люминесценции оказалась также интересным методом исследования миграции энергии в молекулярных кристаллах [50].

В заключение необходимо отметить, что ряд разработанных методов изучения кристаллов с помощью поляризованной люминесценции может оказаться весьма полезным для биологических систем, в которых молекулы ориентированы и которые можно рассматривать как «квазикристаллы» (например, грани хлоропластов и т. п.).

6. Поляризационные спектры и возможности их применения

Поляризационным спектром называют зависимость поляризации люминесценции от длины волны возбуждающего света; при этом существенно, что спектр излучения от последней не зависит, а степень поляризации одинакова для всего спектра излучения.

Впервые эта зависимость была обнаружена В. Л. Левпиным [10] у некоторых растворов красителей в сравнительно небольшом интервале длин волн возбуждения. С. И. Вавилов [11] провел эти измерения в широкой ультрафиолетовой области спектра возбуждения и нашел резкие изменения поляризации. Этой работой было показано, что поляризационные спектры можно рассматривать как новую интересную характеристику люминесцирующего вещества.

Анализируя поляризационные спектры и сопоставляя их со спектрами поглощения, удается делать важные выводы о строении излучающих молекул, в частности об ориентации осцилляторов поглощения и излучения в молекуле друг относительно друга и по отношению к осям молекулы, к ее структурным элементам. Этому кругу вопросов посвящено довольно большое число работ.

П. П. Феофилов [12, 13] исследовал поляризационные спектры различных красителей (свыше 60) и показал их большую специфичность (часто поляризационный спектр данного вещества специфичнее, чем спектр люминесценции, если последний представлен широкой бесструктурной полосой).

Поляризационные спектры ураниловых солей в стеклах изучал А. Н. Севченко [14]. Им установлено сильное влияние природы стекла на зависимость поляризации люминесценции от длины волны возбуждения.

В других работах [15, 16] поляризационные спектры были применены для изучения структуры органических молекул различных классов — антрацена и его производных, производных нафталина, полиенов и др.

Нужно упомянуть также работы Лафит [17], содержащие экспериментальные и теоретические исследования поляризационных спектров и спектров поглощения ряда красителей.

Особый интерес представляют работы по поляризационным спектрам хлорофилла и родственных соединений. Их результаты могут иметь существенное значение в решении ряда вопросов, связанных с проблемой фотосинтеза.

Ф. Перрен [18] впервые измерил поляризацию красной флуоресценции хлорофилла при возбуждении светом разных длин волн и определил углы между осциллятором излучения и различными осцилляторами поглощения. Поляризация, в частности, получилась положительной при всех длинах волн возбуждения.

Ступп и Кун [19] подробно исследовали поляризационный спектр чистого хлорофилла *a* в разных вязких растворителях (глицерин, касторовое и вазелиновое масла) и обнаружили значительную отрицательную поляризацию (порядка -30%) в области 520—560 *ммк* (область *D*-полосы поглощения). Они пришли к выводу, что ряд полос поглощения в этой области (*D*, *C*, *E*), которые раньше считались колебательными, соответствуют разным электронным переходам.

Гедер [20] изучил структуру поляризационных спектров и спектров поглощения хлорофиллов *a* и *b*, бактериохлорофилла и соответствующих феофитинов. Он установил, что осцилляторы лежат в плоскости порфиринового ядра, и определил взаимную ориентацию осцилляторов, соответствующих разным полосам поглощения. Он высказал также предположение, подкрепленное рядом данных из анализа спектров, о расположении этих осцилляторов относительно структурных элементов исследуемых молекул, а именно, что осциллятор 1-го электронного перехода направлен перпендикулярно к длине конъюгированной системы, а осциллятор 2-го перехода — параллельно ей. Данные Гедера согласуются с теоретическими расчетами ряда авторов, которые с помощью квантовомеханического метода молекулярных орбит вычисляли положение полос поглощения и ориентацию соответствующих осцилляторов для тетрагидропорфина.

Надо отметить, что между экспериментальными результатами Гедера и Ступпа и Куна есть расхождения, причина которых остается непонятной. В противоположность Ступпу и Куну, Гедер не получил отрицательной поляризации в области *D*-полосы.

Подробное исследование поляризационных спектров хлорофилла, феофитина и его люминесцирующих металлопроизводных произведено Севченко и его сотрудниками [21].

Авторы обнаружили тонкую структуру спектров и на основе их анализа пришли к выводу, что каждой полосе поглощения соответствует свой электронный переход.

Отрицательной поляризации у хлорофилла ими также не было обнаружено.

Конев [22] исследовал поляризацию флуоресценции фотосинтетического пигмента фикоэритрина. Фикоэритрин является хромопротеидом, в котором с белковым носителем связаны пептидной связью несколько хромофорных групп. Оказалось, что поляризация флуоресценции весьма мала. Она остается малой даже при очень низких температурах, следовательно,

ее малость обусловлена не вращательной деполаризацией. Этот факт автор считает доказательством наличия миграции энергии между хромофорами (см. § 1).

Далее, Севченко, Гуринович [22а] и Кравцов [22б] исследовали зависимость поляризации люминесценции хлорофилла от длины волны излучения и показали, что в этом случае поляризация люминесценции в разных

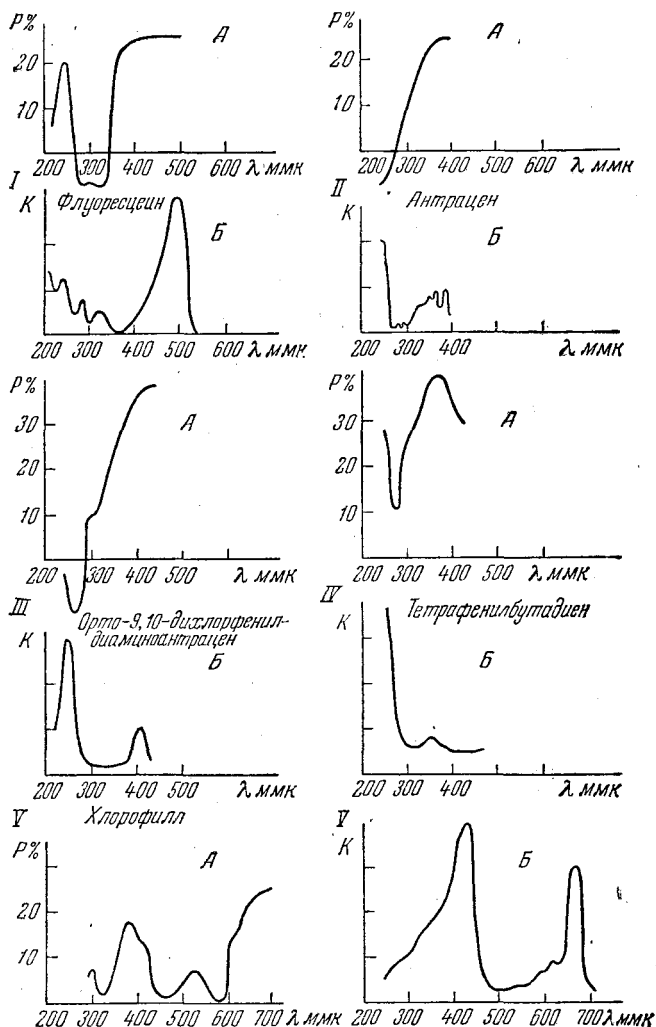


Рис. 89. Поляризационные спектры (А) и спектры поглощения (Б) некоторых соединений.

участках спектра излучения различна. Тем самым показано, что спектр излучения соответствует переходам не с одного, а с нескольких возбужденных электронных уровней.

Определение природы и ориентации осцилляторов в молекуле хлорофилла, несомненно, окажется очень существенным для решения сложных вопросов о строении хлоропластов, о формах существования в них хлорофилла и др.

В связи с этим нужно отметить, что среди различных оптических методов изучения хлорофилла *in vivo* чрезвычайно желательны и многообещающие исследования поляризованной люминесценции.

Попытки исследования поляризации флуоресценции хлорофилла *in vivo* уже имеются. В работе [23] сравнивается поляризация флуоресценции вязких растворов хлорофилла и суспензии одноклеточной водоросли хлореллы. Степень поляризации во втором случае ($\sim 3\%$) оказалась существенно меньше, чем в первом ($\sim 25\%$). Авторы делают отсюда вывод о наличии миграции энергии между молекулами хлорофилла в гранях; по величине деполяризации они оценивают число актов миграции. Возможность такой оценки представляется весьма важной для проблемы фотосинтеза.

Таким образом, к настоящему времени по поляризационным спектрам накоплен уже значительный материал. Интересующимся можно рекомендовать специальную литературу (см., например, [24]).

Большая специфичность поляризационных спектров позволяет предполагать, что их можно эффективно использовать не только для изучения структур молекул, но, наряду с другими характеристиками люминесценции, и для целей химического анализа.

Приведенные на рис. 89 примеры поляризационных спектров иллюстрируют эту специфичность.

Однако ряд трудностей ограничивает возможности применения этого метода. Это прежде всего большая чувствительность поляризации к условиям опыта (вязкость и чистота растворителя, температура и т. п.) и вытекающее отсюда требование хорошей экспериментальной воспроизводимости этих условий; возможности использования метода суживаются необходимостью применять очень вязкие растворители. Наконец, следует отметить, что работа эта связана с необходимостью овладения теоретическими основами самого метода и с применением специальной поляризационной аппаратуры, не столько сложной, сколько малоизвестной и мало распространенной.

Вероятно, именно этим объясняется то, что этот метод анализа не получил пока широкого распространения. Можно назвать только попытку использовать его для определения качества адреналина [15а]. Аналитические возможности этого метода выявятся при более широком его применении.

ЛИТЕРАТУРА к гл. XX

1. С. И. Вавилов, Доклад на I Всесоюзном совещании по люминесценции, Изв. АН СССР, сер. физич. 9, 283 (1945); Сочинения, т. 2, стр. 190.
2. В. Л. Левшин, Фотолюминесценция жидких и твердых веществ, Гостехиздат, 1954.
3. Г. С. Ландсберг, Оптика, Гостехиздат, 1954.
4. Р. В. Поль, Введение в оптику, Гостехиздат, 1947.
5. Физические методы органической химии, под ред. А. Вейсберга, т. IV, гл. XXV, ИЛ, 1955.
6. В. В. Каврайский, ЖЭТФ 20, 619 (1950).
- 6а. G. Weber, JOSA 46, 962 (1956).
- 6б. I. Ketskemeti, L. Gargya, E. Salkovits, Acta phys. et chem. Szeged 3, 16 (1957).
7. Л. А. Тумерман, ДАН СССР 58, 1945 (1947).
8. Л. А. Спекторов, ДАН СССР 65, 485 (1949).
9. H. Wille, Optik 9, 84 (1952).
10. В. Л. Левшин, Zs. f. Phys. 26, 274 (1924).
11. С. И. Вавилов, Zs. f. Phys. 55, 690 (1929); Сочинения, т. I, стр. 290.

12. П. П. Феофилов, ЖЭТФ 12, 328 (1942).
13. П. П. Феофилов, Изв. АН СССР, сер. физич. 9, 317 (1945).
14. А. Н. Севченко, Изв. АН СССР, сер. физич. 13, 188 (1949).
15. Н. Д. Жевандров, ДАН СССР 74, 25 (1950).
- 15а. Н. Д. Жевандров, Изв. АН СССР, сер. физич. 20, 570 (1956).
- 15б. Н. Д. Жевандров, Труды ФИАН 6, 121 (1955).
16. В. И. Грибков, Н. Д. Жевандров, ДАН СССР 98, 565 (1954).
17. E. Laffitte, Journ. Phys. rad. 15, 375 (1954); Ann. de phys. 10, 71 (1955).
18. F. Perrin, Ann. de phys. 12, 169 (1929).
19. R. Stupp, H. Kuhn, Helv. chim. acta 35, 2469 (1952).
20. J. C. Goedheer, Nature 176, 928 (1955).
21. А. Н. Севченко, Г. П. Гуринович, И. Н. Ермоленко, К. Н. Соловьев, Доклад на II Всесоюзной конференции по фотосинтезу, 1957; Оптика и спектроскопия 3, 237 (1957).
22. С. В. Конев, Доклад на II Всесоюзной конференции по фотосинтезу, 1957.
- 22а. А. Н. Севченко, Г. П. Гуринович, Труды VI совещания по люминесценции, 1958; Изв. АН СССР, сер. физич. 22, 1407 (1958).
- 22б. Л. А. Кравцов, Труды VI совещания по люминесценции, 1958; Изв. АН СССР, сер. физич. 23, 78 (1959).
23. W. Arnold, E. S. Meek, Arch. of Biochem. and Biophys. 60, 82 (1956).
24. П. П. Феофилов, УФН 36, 417 (1948).
25. В. Л. Левшин, ЖРФХО, ч. физ. 57, 283 (1925); Zs. f. Phys. 32, 307 (1925).
26. F. Perrin, C. R. 178, 2978 (1924); 180, 581 (1925); 181, 514 (1925); 182, 219 (1926); Acta phys. Pol. 5, 335 (1936).
27. G. Weber, Biochem. Journ. 51, 145 (1952).
28. А. Н. Севченко, Труды ГОИ 14, 65 (1941).
29. T. Wrechbuhler, M. Magat, Journ. chim. phys. 47, 679 (1950).
30. C. R. Singlettery, L. A. Weinberger, J. Am. Chem. Soc. 73, 4574 (1951).
31. G. Weber, Biochem. Journ. 51, 155 (1952); Disc. Farad. Soc. 13, 33 (1953).
32. D. J. R. Laurence, Biochem. Journ. 51, 168 (1952).
33. R. F. Steiner, Arch. of Biochem. and Biophys. 46, 291 (1953).
34. V. Massey, W. F. Harrington, B. S. Hartley, Disc. Farad. Soc. 20, 24 (1955).
35. Н. Д. Жевандров, В. П. Николаев, ДАН СССР 113, 1025 (1957).
- 35а. А. Н. Севченко, А. М. Саржевский, Труды VI совещания по люминесценции, Изв. АН СССР, сер. физич. 22, 1412 (1952).
36. В. Л. Левшин, ЖРФХО, ч. хим. 58, 177 (1926); Zs. f. Phys. 34, 330 (1925).
37. H. Kautsky, A. Hirsch, Chem. Ber. 65, 401 (1932).
38. А. Яблонский, Nature 133, 140 (1934); Acta phys. polonica 3, 421 (1934); 4, 371, 389 (1935).
- 38а. P. Pringsheim, Acta phys. Polon. 4, 331 (1935).
39. F. Bando, Angew. Chem. 62, 534 (1950).
40. J. M. Preston, J. F. S. u. J. Soc. Dyers Colorists 66, 357 (1950).
41. J. M. Preston, P. C. Tsien, J. Soc. Dyers Colorists 66, 261 (1950).
42. I. H. Scharf, Z. Naturforsch. 10 B, 355 (1955).
43. J. Graulich, Krist. opt. Untersuch., Wien, 1858, стр. 64, 67.
44. П. П. Феофилов, УФН 58, 69 (1956).
45. K. S. Krishnan, P. K. Seshan, Acta phys. Polon. 5, 289 (1936); Proc. Ind. Acad. A8, 487 (1938).
46. P. Pesteil, Ann. phys., 1955, Janv.—fevr., стр. 128.
47. S. S. Ganguly, N. K. Choudhury, Phys. Rev. 95, 1148 (1954).
48. Н. Д. Жевандров, Изв. АН СССР, сер. физич. 20, 553 (1956).
49. В. Н. Варфоломеева, Н. Д. Жевандров, ДАН СССР 115, 1115 (1957).
50. Н. Д. Жевандров, ДАН СССР 83, 677 (1952); 100, 455 (1955).
51. А. М. Бонч-Бруевич, УФН 58, 85 (1956).
52. L. Gati, J. Ketskemeti, N. Marek u. L. Szalay, Acta phys. et chem. Szeged 4, 94 (1958).

ПРИЛОЖЕНИЯ

I. ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ СОЕДИНЕНИЙ ЖИРНОГО РЯДА И НЕКОТОРЫХ ЦИКЛИЧЕСКИХ НЕАРОМАТИЧЕСКОГО РЯДА

В большинстве случаев соединения жирного ряда флуоресцируют в растворе чрезвычайно слабо. Спектрографическое изучение спектров их свечения представляет поэтому значительные трудности; в частности, осложняющим моментом являются неизбежные при длительных экспозициях фотохимические реакции. В связи с этим свечение соединений этого класса мало обследовано. Литературные указания носят нередко противоречивый характер, а иногда являются и заведомо ошибочными, так как флуоресцирующие примеси искажают характер наблюдаемого свечения. Между тем, сведения о флуоресценции соединений жирного ряда представляют, с точки зрения химика, ведущего люминесцентный анализ, большой интерес: возможность ориентироваться в том, какие из присутствующих соединений не флуоресцируют, является во многих случаях не менее существенной, чем данные о свечении флуоресцирующих компонентов.

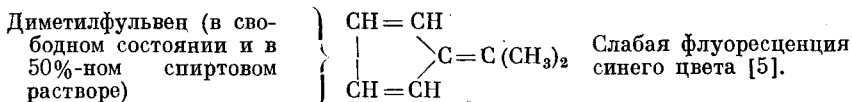
Ввиду изложенного мы сочли необходимым, несмотря на скудность данных о флуоресценции соединений жирного ряда, тем не менее эти данные подытожить, дополнить собственными наблюдениями и систематизировать в таблицы; наша задача — внести возможную ясность в вопрос о характере флуоресценции рассматриваемого класса веществ. При составлении таблиц мы старались относиться к имеющимся данным критически и приводить только те из них, которые получены в результате наблюдения (насколько можно судить) химически чистых препаратов. Данные наших таблиц относятся к свечению только в видимой части спектра — флуоресценция соединений жирного ряда в коротковолновой части спектра, насколько нам известно, не изучена, если не считать приведенных в таблице опытов Штарка, давших отрицательный результат. При описании флуоресценции приходится, как ясно из вышесказанного, довольствоваться указанием воспринимаемого глазом цвета свечения или констатацией отсутствия видимой флуоресценции.

1. Насыщенные углеводороды C_nH_{2n+2} не флуоресцируют [1]*).

2. Ненасыщенные углеводороды.

Литературные данные относительно флуоресценции этого класса веществ, насколько нам известно, отсутствуют. А priori можно утверждать, что углеводороды с достаточным количеством сопряженных двойных связей флуоресцируют.

3. Непредельный циклический углеводород.



*) Чистый петролейный эфир, т. е. смесь углеводородов, начиная с C_6H_{14} , не светится (Гайтингер [1], собственные наблюдения). Однако часто приходится иметь дело с петролейными эфирами, загрязненными флуоресцирующими веществами. Равным образом синяя флуоресценция, обнаруживаемая иногда парафином, свидетельствует, по Гайтингеру [1], о наличии примесей [2].

4. Спирты.

Вещество	Формула	Флуоресценция
Метиловый спирт	CH_3OH	Установлено отсутствие видимой флуоресценции при условии достаточной очистки [1]
Этиловый спирт	$\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$	
Глицерин	$\text{CH}_2\text{OH} - \text{CH}(\text{OH}) - \text{CH}_2\text{OH}$	
Маннит	$\text{C}_6\text{H}_8(\text{OH})_6$	Едва заметная синеватая флуоресценция, вероятно, обуславливаемая загрязнениями [3]

Таким образом, можно утверждать, что видимая флуоресценция, приписываемая спиртам, обуславливается примесями.

5. Эфир $(\text{C}_2\text{H}_5)_2\text{O}$. Не флуоресцирует [1, 3].

6. Галоидопроизводные.

Вещество	Формула	Флуоресценция
Хлороформ	CHCl_3	По Гайтингеру [1], не флуоресцируют
Четыреххлористый углерод	CCl_4	

7. Кислоты насыщенные.

Вещество	Формула	Флуоресценция
Муравьиная кислота	HCO_2H	Не флуоресцирует [1]
Уксусная кислота	$\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$	Не флуоресцирует [1] *)
Масляная кислота	$\text{C}_3\text{H}_7\text{CO}_2\text{H}$	По Гайтингеру [1], флуоресценция синего цвета
Пальмитиновая кислота	$\text{C}_{15}\text{H}_{31}\text{CO}_2\text{H}$	В растворах флуоресценция бледно-голубого цвета [1, 3]
Стеариновая кислота	$\text{C}_{17}\text{H}_{35}\text{CO}_2\text{H}$	В растворе не флуоресцирует (собств. набл.)
Янтарная кислота	$\text{CO}_2\text{H} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CO}_2\text{H}$	В растворе не флуоресцирует (собств. набл.)

*) Продажная уксусная кислота иногда светится довольно ярко благодаря флуоресцирующим примесям.

8. Кислоты ненасыщенные.

Вещество	Формула	Флуоресценция
Олеиновая кислота	$C_{17}H_{33}CO_2H$	Флуоресцируют в растворах синим светом [3]
Линолевая кислота	$C_{17}H_{31}CO_2H$	
Додекапентаеновая кислота	$CH_3-(CH)_{10}-COOH$	В растворе слабая флуоресценция зеленого цвета [4]
Изометилбиксин (эфир)	$CO_2CH_3-CH=CH-C(CH_3)=CH-CH=CH-C(CH_3)=CH-CH=CH-C(CH_3)-CH=C(CH_3)-CH=C(CH_3)-CH=CH-CO_2CH_3$	В растворе флуоресценция красно-желтого цвета, размытый спектр [4]

9. Соединения, содержащие карбонильные группы; кетоны и кетены*).

Вещество	Формула	Флуоресценция
Ацетон	CH_3COCH_3	По Гайтингеру [1], не флуоресцирует. Штарк [5] наблюдал очень слабую флуоресценцию свободного ацетона и его 50%-ного спиртового раствора. Ср. [13]
Метилэтилкетон**)	$CH_3COC_2H_5$	Очень слабая флуоресценция синего цвета [5]
Диацетил**)	$CH_3COCOCH_3$	Флуоресценция зеленого цвета [5]. Ср. [12] и [13]
Пировиноградная кислота**)	CH_3COCO_2H	Слабая флуоресценция синего цвета [5]
Азодикарбамид (в водных насыщенных и разбавленных растворах)	$H_2N-CO-N=$ $=N-CO-NH_2$	У этих веществ Штарк [5] установил отсутствие флуоресценции при освещении ртутной дугой ($\lambda > 250$ м.мк)
Форон (в спиртовом растворе, $C = 5 \cdot 10^{-2}$ г/мл ³)	$(CH_3)_2C=CH \rangle CO$ $(CH_3)_2C=CH \rangle$	
Дифенилкетен (в свободном состоянии)	$C_6H_5 \rangle C=C=O$ $C_6H_5 \rangle$	
Диэтилкетен (в свободном состоянии)	$C_2H_5 \rangle C=C=O$ $C_2H_5 \rangle$	

*) С точки зрения выдержанности классификации не все указываемые соединения должны быть отнесены к рассматриваемому классу, однако для наших целей изучение их флуоресценции именно в этой связи представляется наиболее целесообразным.

***) Эти данные Штарка [5] относятся к свободным веществам и к их 50 %-ным спиртовым растворам. Так как в опытах Штарка флуоресценция наблюдалась в чрезвычайно концентрированных растворах, возможно, что она обуславливается примесями.

10. Углеводы *).

Приведенные данные относятся к флуоресценции водных растворов.

Вещество	Формула	Флуоресценция
Глюкоза	$C_6H_{12}O_6$	Очень слабая, синего цвета [3]
Левулоза	$C_6H_{12}O_6$	Не флуоресцирует [3]
Манноза	$C_6H_{12}O_6$	Слабая, фиолетового цвета [3]
Мальтоза	$C_{12}H_{22}O_{11}$	Не флуоресцирует [3]
Рафиноза	$C_{18}H_{32}O_{16}$	Едва заметная, фиолетового цвета [3]
Декстрин		Зелено-голубого цвета [3]. В спиртовом растворе—очень слабая, синего цвета [3]
Крахмал (картофельная мука обычная, не химически чистый препарат)		Ни в водном, ни в спиртовом растворе не флуоресцирует

*) По Гайтингеру [1], большинство углеводов в водном растворе флуоресцирует очень слабо; цвет флуоресценции—от синего до фиолетового.

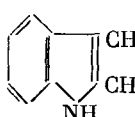
11. Аминокислоты, мочевины, некоторые их производные биологически родственные вещества *).

Вещество	Цвет флуоресценции растворов		
	водных	воднощелочных	воднокислотных
Гликокол $CH_2(NH_2)CO_2H$	Не флуоресцирует [6, 1]	Синий [4]	—
Аланин $CH_3CH(NH_2)CO_2H$	Слабая флуоресценция голубого [6] или сине-фиолетового цвета [3]	Не флуоресцирует [6, 1]	Голубой [6]

*) С точки зрения выдержанности принятой в химии классификации органических соединений следовало бы включить индол и последующие соединения этого списка в таблицу гетероцилических соединений. Однако, поскольку назначение этих таблиц—быть полезными при практическом использовании люминесцентного анализа, нам кажется более удобным объединить приводимую здесь группу веществ по признаку их биологического сродства и тем самым облегчить труд по ориентации во флуоресценции биологических объектов.

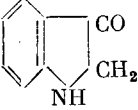
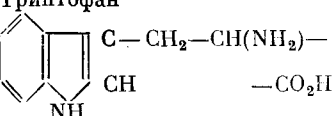
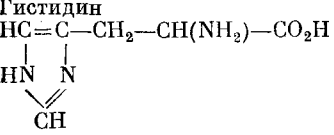
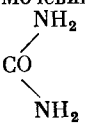
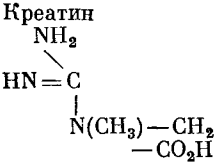
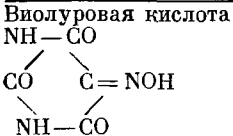
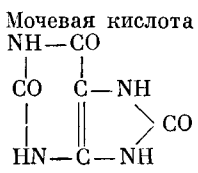
При использовании бумажной хроматографии для разделения аминокислот зоны последних обнаруживали по их люминесценции; однако оказалось, что люминесцируют не сами аминокислоты, а продукты их взаимодействия с бумагой [10, 11].

Продолжение

Вещество	Цвет флуоресценции растворов		
	водных	воднощелочных	воднокислотных
Саркозин $(\text{CH}_3)\text{NH}\cdot\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$	Не флуоресцирует [3]	Не флуоресцирует [3]	Не флуоресцирует [3]
Валин $(\text{CH}_3)_2\text{CH}\cdot\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CO}_2\text{H}$	Фиолетовый [6]	Фиолетовый [6]	Голубой [6]
Лейцин $(\text{CH}_3)_2\text{CH}\cdot\text{CH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{CO}_2\text{H}$	Не флуоресцирует [6]	Не флуоресцирует [6]	—
Аспаргиновая кислота $\begin{array}{c} \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{CH}_2 - \text{CO}_2\text{H} \end{array}$	Не флуоресцирует [1, 6]	—	—
Аспаргин $\begin{array}{c} \text{CH}_2 - \text{CO}\cdot\text{NH}_2 \\ \\ \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{CO}_2\text{H} \end{array}$	Не флуоресцирует [3]	Не флуоресцирует [3]	Не флуоресцирует [3]
Цистин солянокислый $\begin{array}{c} \text{S} - \text{CH}_2 = \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{CO}_2\text{H} \\ \\ \text{S} - \text{CH}_2 - \text{CH}(\text{NH}_2) - \text{CO}_2\text{H} \end{array}$	Фиолетовый [6]	Не флуоресцирует [6]	Синеватый [6]
Тирозин $p\text{-OH}\cdot\text{C}_6\text{H}_4\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}(\text{NH}_2) - \text{CO}_2\text{H}$	Не флуоресцирует [3]	Не флуоресцирует [3]	Не флуоресцирует [3]
Гипшуровая кислота $\text{C}_6\text{H}_5\cdot\text{CO}\cdot\text{NHCH}_2\text{CO}_2\text{H}$	Не флуоресцирует [3]	Не флуоресцирует [3]	Не флуоресцирует [3]
Индол *) 	Не флуоресцирует [3]	Не флуоресцирует [3]	Не флуоресцирует [3]
Метилиндол $\alpha\text{-C}_8\text{H}_6(\text{CH}_3)\text{N}$	—	—	Слабая флуоресценция сине-зеленого цвета [7]
Диоксииндол $\text{C}_8\text{H}_5(\text{OH})_2\text{N}$	Синий [8]	—	—

*) Индол в органических растворителях обладает флуоресценцией синего цвета.

Продолжение

Вещество	Цвет флуоресценции растворов		
	водных	воднощелочных	воднокислотных
Индоксил 	Желто-зеленый [7]	—	—
Триптофан 	Сине-зеленый [6]	Сине-зеленый [6]	Синий [6]
Гистидин 	Синий [3]	—	Синий [3]
Мочевина 	Не флуоресцирует	Не флуоресцирует	Не флуоресцирует
Креатин 	Сине-фиолетовый, едва заметная [3]	—	—
Виолуровая кислота 	Не флуоресцирует [9]	—	—
Виолуровокислый калий	Не флуоресцирует [9]	—	—
Мочевая кислота 	Не флуоресцирует [3]	Не флуоресцирует [3]	Не флуоресцирует [3, 9]
Нуклеиновая кислота	Не флуоресцирует [3]	Не флуоресцирует [3]	Не флуоресцирует [3]
Пептон	Голубовато-синий [3]	—	—

12. Некоторые карбоциклические соединения неароматического ряда (флуоресценция спиртовых растворов).

Вещество	Формула	Флуоресценция
Циклогексан	$ \begin{array}{c} \text{CH}_2 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}_2 \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{H}_2\text{C} \quad \text{CH}_2 \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{CH}_2 \end{array} $	Отсутствует или едва заметная, фиолетовая [3,14]
Камфара	$ \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 - \text{C} - \text{CO} \\ \quad \\ \text{H}_3\text{C} - \text{C} - \text{CH}_3 \\ \quad \\ \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{CH}_2 \end{array} $	Очень слабая, синего цвета [5]
Камферхион	$ \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2 - \text{C} - \text{CO} \\ \quad \\ \text{CH}_3 \cdot \text{C} \cdot \text{CH}_3 \\ \quad \\ \text{CH}_2 - \text{CH} - \text{CO} \end{array} $	Очень слабая, зеленого цвета [5]

13. Стерины.

а) Холестерин		Отсутствует [3]
б) Фолликулин (См. гл. XII, стр. 200)		Сине-фиолетового цвета

ЛИТЕРАТУРА К ПРИЛОЖЕНИЮ I

1. M. Haitinger, Die Fluoreszenzanalyse in der Mikrochemie, Leipzig, 1937.
2. R. Wasicky, Pharm. Monatshefte 10, 17 (1929). Автор этой заметки полагает, что препараты parafinum liquidum pro injectione безвредны (не вызывают раздражения) только в том случае, если они лишены флуоресценции.
3. Собственные наблюдения флуоресценции растворов препаратов Кальбаум в ультрафиолетовом свете.
4. Спектры флуоресценции додекапентаеновой кислоты и изометилбиксина наблюдались Гауссером с сотрудниками, Zs. f. physik. Chemie 29, 451 (1935). Ими описана и тонкая структура этих спектров при температуре -196° .
5. J. Stark, Phys. Zs. 9, 667 (1908).
6. Ch. Dhéré, Nachweis der biologisch wichtigen Körper durch Fluorescenz, 1933. Ссылка на работу Клейна и Линзера.
7. Ch. Dhéré, La fluorescence en biochimie, Paris, 1937, стр. 238, 239.
8. Euler, Biochem. Zs. 281, 206 (1935).
9. J. Stark, Phys. Zs. 9, 490 (1908).
10. E. M. Gal, Science 111, № 2894, 677 (1950).
11. A. J. Woilwood, Nature 166, 272 (1950).
12. K. Kalle, Naturw. 25, 61 (1937). Наблюдал флуоресценцию диацетила в водном растворе; свечение появляется и вновь исчезает.
13. J. Heicklen, J. Amer. Chem. Soc., 3863 (1959). Флуоресценция и фосфоресценция паров диацетила и ацетона. Свечение слабое, выход мал.
14. K. Haberl, Ann. Physik 21, 301 (1934). Наблюдение флуоресценции циклогексана и ее изменения с температурой.

II. ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ СОЕДИНЕНИЙ АРОМАТИЧЕСКОГО РЯДА, ПОЛИЕНОВ И ГЕТЕРОЦИКЛИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

В таблицах приведены спектры флуоресценции веществ в растворе. Даны перерисованные из оригинальных работ микрофотограммы или кривые распределения интенсивностей. Пунктирные кривые не являются точными и передают условно характер флуоресценции — положение максимумов и границы спектров.

Если в оригинальной работе указаны только длины волн максимума и границ спектра, то мы изображали спектр флуоресценции треугольником, вершина которого отвечает положению максимума.

В работах Лея указаны относительные интенсивности спектров флуоресценции и интервалы длин волн, в которых они лежат. Эти данные нанесены в виде прямоугольников; высота прямоугольника характеризует интенсивность флуоресценции. Поскольку оценка интенсивностей носит в этих работах относительный характер, приходится довольствоваться сопоставлением интенсивностей (высот прямоугольников) только в наблюдениях одного и того же автора. В виде общего правила полосы флуоресценции нанесены безотносительно к их интенсивностям.

Мы намеренно наносим в таблицах параллельные данные различных авторов: хорошее их совпадение, как в случае спектров Штарка и Лея, показывает доброкачественность приводимых наблюдений; с другой стороны, резкое расхождение, как, например, спектров Альбрехта по сравнению со спектрами Лея, хорошо иллюстрирует необходимость более критически относиться к степени химической чистоты наблюдаемых объектов.

В третьем столбце таблиц указаны номера ссылок на литературу, где читатель найдет для каждого приведенного соединения указания о работах, в которых изучалась соответствующая флуоресценция.

По буквам с индексами в четвертом столбце читатель найдет в примечаниях к приложению второму некоторые сведения о данном спектре. Цифровые индексы показывают, на основании каких литературных данных составлено примечание. Например, примечание A^{1,5,7} составлено по работам Штарка и Штейбинга [1], Лея и Энгельгардта [5] и Альбрехта [7].

Буквы без индексов относятся к флуоресценции веществ в газобразном и твердом состоянии.

Вещества, для которых приведены спектры, полученные при их исследовании в целях использования как сцинтилляторы, отмечены одной звездочкой (*). Из их числа применяются как компоненты жидких сцинтилляторов соединения: № 122 (терфенил); № 187 (PPO); № 188 (α -NPO); № 189 (BBO); № 190 (MBBO); № 191 (PBD); № 192 (POPOP), а также № 130 (дифенилгексатриен).

Вещества, применяемые как кристаллические сцинтилляторы, отмечены двумя звездочками (**)¹.

Соединения, отмеченные буквами «кр.», исследовались только в кристаллическом состоянии; соединения, отмеченные помимо этого еще и другой буквой, исследовались также и в растворе.

¹) После того, как рукопись данной книги уже была сдана в издательство, появились труды конференции по сцинтилляторам [60]; читатель сможет найти в них спектры люминесценции веществ в растворенном состоянии и для тех сцинтилляторов, которые отмечены **, т. е. для которых в таблицах приведены спектры люминесценции кристаллов.

¹ бензол и его производные

№ по порядку	Вещество	Длина волны, мкм										Литература	Примечание
		260	300	340	380	420	460	500	540	580	620		
1	Бензол C ₆ H ₆											1,2,3,4,5,6	A ¹ , A ² , A ⁴ , A ⁵
2	Толуол C ₆ H ₅ CH ₃											1,5	A ⁵ , A ¹
3	o-Ксилол 1,2-C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂											1,2	A ¹
4	m-Ксилол 1,3-C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂											1	A ¹
5	p-Ксилол 1,4-C ₆ H ₄ (CH ₃) ₂											1,2	A ¹
6	Этилбензол C ₆ H ₅ ·C ₂ H ₅											5	A ⁵
7	Пропилбензол C ₆ H ₅ ·C ₃ H ₇											5	A ⁵
8	Мезитилен 1,3,5-C ₆ H ₃ (CH ₃) ₃											1	A ¹
9	Дурол 1,2,4,5-C ₆ H ₂ (CH ₃) ₄											1	A ¹
10	Дурол* 1,3,4,6-C ₆ H ₂ (CH ₃) ₄											52	Кр.
11	Пентаметилбензол* 1,2,3,4,5-C ₆ H(CH ₃) ₅											52	Кр.
12	Гексаметилбензол* 1,2,3,4,5,6-C ₆ (CH ₃) ₆											52	Кр.
13	Стирол <chem>O=Cc1ccccc1</chem>											5	A ⁵
14	Бензолсульфокислота C ₆ H ₅ SO ₃ H											1	A ¹
15	Хлорбензол C ₆ H ₅ Cl											1,5	A ¹ , A ⁵
16	Бромбензол C ₆ H ₅ Br											1,5	A ¹ , A ⁵
17	Иодбензол C ₆ H ₅ I											1,5	B ⁵ , A ¹ , A ⁵
18	p-Дихлорбензол 1,4-C ₆ H ₄ Cl ₂											5	A ⁵
19	o-Хлортолуол 1,2-Cl-C ₆ H ₄ CH ₃											5	A ⁵
20	p-Хлортолуол 1,4-Cl-C ₆ H ₄ CH ₃											5	A ⁵
21	Фенол C ₆ H ₅ OH											1,5	C ⁵ , A ¹ , A ⁵

Ультрафиолетовый Фиолетовый Синий Голубой Зеленовато-желтый Желтый Оранжево-красный Красный

№ по порядку	Вещество	Длина волны, мкм										Литература	Примечание
		260	300	340	380	420	460	500	540	580	620		
22	o-Хлорфенол Cl-C ₆ H ₄ OH											5	A ⁵
23	Фенолят натрия C ₆ H ₅ ONa											5	A ⁵
24	Анизол C ₆ H ₅ ·O·CH ₃											5	A ⁵
25	o-Крезол 1,2-C ₆ H ₄ (CH ₃)OH											5	A ⁵
26	o-Крезол + 5 NaOC ₂ H ₅											5	A ⁵
27	m-Крезол 1,3-C ₆ H ₄ (CH ₃)OH											2,5	A ⁵
28	m-Крезол + NaOC ₂ H ₅											5	A ⁵
29	p-Крезол 1,4-C ₆ H ₄ (CH ₃)OH											5	A ⁵
30	p-Крезол + 5 NaOC ₂ H ₅											5	A ⁵
31	Пирокатехин 1,2-C ₆ H ₃ (OH) ₂											1	A ¹
32	Резорцин 1,3-C ₆ H ₃ (OH) ₂											1	A ¹
33	Гидрохинон 1,4-C ₆ H ₄ (OH) ₂											1	A ¹ , B ¹
34	Хинон <chem>O=C1C=CC(=O)C=C1</chem>											1	A ¹ , B ¹
35	Пирогаллол 1,2,3-C ₆ H ₃ (OH) ₃											1	A ¹
36	Флорогалуцин 1,3,5-C ₆ H ₃ (OH) ₃											1	A ¹ , C ¹
37	Оксигидрохинон 1,2,4-C ₆ H ₃ (OH) ₃											1	A ¹
38	Анилин C ₆ H ₅ NH ₂											1,5	A, A ¹ , A ⁵
39	Анилин + 5HCl											5	A ⁵
40	Анилин + 5NaOC ₂ H ₅											5	A ⁵

Фиолетовый Синий Голубой Зеленовато-желтый Желтый Оранжево-красный Красный

№ по порядку	Вещество	Длина волны, мкм											Литература	Примечание				
		260	300	340	380	420	460	500	540	580	620	660			700	740		
41	Моназиланилин $C_6H_5 \cdot NH \cdot C_2H_5$															5	A ⁵	
42	Моназиланилин + 5 HCl																6	A ⁵
43	Диметиланилин $C_6H_5N(CH_3)_2$																5	A ⁵
44	Диметиланилин + 5 HCl																5	A ⁵
45	Фенилтриметиламмонийхлорид $(C_6H_5)(CH_3)_3N \cdot Cl$																5	A ⁵
46	о-Толуидин $1,2-C_6H_4(CH_3)(NH_2)$																5	A ⁵
47	о-Толуидин + 5 HCl																5	A ⁵
48	т-Толуидин $1,3-C_6H_4(CH_3)(NH_2)$																5	A ⁵
49	т-Толуидин + 5 HCl																5	A ⁵
50	р-Толуидин $1,4-C_6H_4(CH_3)(NH_2)$																5	A ⁵
51	р-Толуидин + 5 HCl																5	A ⁵
52	Диметилтолуидин $1,2-C_6H_4(CH_3) \cdot N(CH_3)_2$																5	A ⁵
53	о-Диметилтолуидин + 5 HCl																5	A ⁵
54	р-Диметилтолуидин $1,4-C_6H_4(CH_3) \cdot N(CH_3)_2$																5	A ⁵
55	р-Диметилтолуидин + 5 HCl																5	A ⁵
56	о-Анизидин $1,2-C_6H_4(OCH_3)(NH_2)$																5	A ⁵
57	о-Анизидин + 5 HCl																5	A ⁵
58	р-Анизидин $1,4-C_6H_4(OCH_3)(NH_2)$																5	A ⁵

Ультрафиолетовый
Фиолетовый
Синий
Голубой
Зеленый
Желтый
Оранжевый
Красный

№ по порядку	Вещество	Длина волны, мкм											Литература	Примечание				
		260	300	340	380	420	460	500	540	580	620	660			700	740		
59	р-Анизидин + 5 HCl																5	A ⁵
60	бензойная к-та $C_6H_5CO_2H$																1,5,7	A ¹ , A ⁵
61	бензойная к-та + NaOC ₂ H ₅																1,5,7	A ¹ , A ⁵ , A ⁷
62	Фталевая к-та $1,2-C_6H_4(CO_2H)_2$																1,5	A ¹ , A ⁵
63	Фталевая к-та + 5 NaOC ₂ H ₅																5,7	A ⁵ , A ⁷
64	Фталевый ангидрид $C_6H_4 \begin{matrix} \diagup CO \\ \diagdown CO \end{matrix} O$																5,8	A ⁵ , A ⁸
65	Имид фталевой к-ты $C_6H_4 \begin{matrix} \diagup CO \\ \diagdown CO \end{matrix} NH$																5	A ⁵ , A ⁵
66	Фталид $C_6H_4 \begin{matrix} \diagup CH_2 \\ \diagdown CH_2 \end{matrix} O$																5	A ⁵
67	Гидразид з-аминофталевой к-ты $NH_2 \begin{matrix} \diagup CO-NH \\ \diagdown CO-NH \end{matrix}$																2,8	A ⁷ , B ⁸
68	Антрахиловая к-та $1,2-C_6H_4(NH_2)CO_2H$																5	A ⁵
69	Антрахиловая к-та + 5 HCl																5	A ⁵
70	Антрахиловая к-та + NaOC ₂ H ₅																5,7	A ⁵ , B ⁷
71	Метилантрахиловая к-та $1,2-C_6H_4(NHCH_3)CO_2H$																5	A ⁵
72	Метилантрахиловая к-та + 5 HCl																5	A ⁵
73	Метилантрахиловая к-та + NaOC ₂ H ₅																5	A ⁵
74	Метиловый эфир метилантрахилового к-ты $1,2-C_6H_4(NHCH_3)CO_2CH_3$																5	A ⁵
75	Метиловый эфир метилантрахилового к-ты + 5 HCl																5	A ⁵
76	Диметилантрахиловая к-та $1,2-C_6H_4(N(CH_3)_2)CO_2H$																5	A ⁵
77	Диметилантрахиловая к-та + 5 HCl																5	A ⁵

Фиолетовый
Синий
Голубой
Зеленый
Желтый
Оранжевый
Красный

№ по порядку	Вещество	Длина волны, мкм											Литература	Примечание			
		260	300	340	380	420	460	500	540	580	620	660			700	740	
78	Метилловый эфир диметилнитроанилиновой к-ты + 5HCl															5	A ⁵
79	бетаин диметилнитроанилиновой к-ты $C_6H_4 \begin{matrix} \text{CO} \\ \text{NH}(C_2H_5)_2 \end{matrix} > O$															5	A ⁵
80	m-Аминобензойная к-та в щелочном растворе $1,3-NH_2-C_6H_4-CO_2Na$															7	B ⁷
81	o-Оксибензойная к-та $1,2-C_6H_4 \cdot OH \cdot CO_2H$															5	A ⁵
82	o-Оксибензойная к-та + 5HCl															5	A ⁵
83	o-Оксибензойная к-та + 5NaOC ₂ H ₅															5	A ⁵
84	o-Метаксибензойная к-та $1,2-C_6H_4(OCH_3)(CO_2H)$															5	A ⁵
85	o-Метаксибензойная к-та + 5NaOC ₂ H ₅															5	A ⁵
86	Метилловый эфир оксибензойной к-ты $1,2-C_6H_4(OH) \cdot CO_2CH_3$															5	A ⁵
87	Фениловый эфир оксибензойной к-ты $1,2-C_6H_4(OH) \cdot CO_2C_6H_5$															5	A ⁵
88	m-Оксибензойная к-та $1,3-C_6H_4(OH) \cdot CO_2H$															5	A ⁵
89	m-Оксибензойная к-та + 5NaOC ₂ H ₅															5	A ⁵
90	p-Оксибензойная к-та $1,4-C_6H_4(OH) \cdot CO_2H$															5	A ⁵
91	p-Оксибензойная к-та + 5NaOC ₂ H ₅															5	A ⁵
92	p-Метаксибензойная к-та $1,4-C_6H_4(OCH_3)CO_2H + 5NaOC_2H_5$															5	A ⁵
93	Бензонитрил C_6H_5CN															5	A ⁵
94	o-Толунитрил $1,2-C_6H_4(CH_3)(CN)$															5	A ⁵
95	p-Толунитрил $1,4-C_6H_4(CH_3)(CN)$															5	A ⁵



Фиолетовый
Синий
Голубой
Зеленый
Желтый
Оранжевый
Красный

№ по порядку	Вещество	Длина волны, мкм											Литература	Примечание			
		260	300	340	380	420	460	500	540	580	620	660			700	740	
96	Бензиламин $C_6H_5CH_2NH_2$															5	A ⁵
97	Бензиламин + 5HCl															5	A ⁵
98	Бензиловый алкоголь $C_6H_5 \cdot CH_2OH$															5	A ⁵
99	Бензилцианид $C_6H_5CH_2CN$															5	A ⁵
100	Фенилуксусная к-та $C_6H_5 \cdot CH_2CO_2H$															5	A ⁵
101	Гидрархичная к-та $C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot CH_2CO_2H$															5	A ⁵
102	Фениламиноуксусная к-та $C_6H_5 \cdot CH(NH_2)CO_2H$															5	A ⁵ , D ⁵
103	Фениламиноуксусная к-та + KOH															5	A ⁵
104	Анилидоуксусная к-та $C_6H_5NH \cdot CH_2CO_2H$															5	A ⁵
105	Анилидоуксусная к-та + 5HCl															5	A ⁵
106	Анилидоуксусная к-та + 5NaOC ₂ H ₅															5	A ⁵
107	Метилловый эфир анилидоуксусной к-ты $C_6H_5NH \cdot CH_2CO_2CH_3$															5	A ⁵
108	Фенилсилуксусная к-та $C_6H_5OCH_2CO_2H$															5	A ⁵

Установлено отсутствие флуоресценции у растворов соединений








бензоилацетона $C_6H_5CO \cdot CH_2COCH_3$	5	Нитропроизводных бензола	
бензилхлорида C_6H_5COCl	5	Нитробензола $C_6H_5NO_2$	1,5
бензамида $C_6H_5CO \cdot NH_2$	5	o-и p-Нитрофенолов $C_6H_4(OH)(NO_2)$	5
Ацетанилида $C_6H_5CO \cdot NH \cdot (CH_3)CO$	5	o-Нитроанилина $C_6H_4(NH_2)(NO_2)$	5
бензилхлорида $C_6H_5CH_2Cl$	5	Динитробензола $C_6H_4(NO_2)_2$	1
Миндальной к-ты и ее натриевой соли $C_6H_5 \cdot CH(OH)CO_2H$	5	Тринитробензола $C_6H_3(NO_2)_3$	5
Коричной к-ты и ее Na соли $C_6H_5 \cdot CH = OH \cdot CO_2H$	5	o,p-и t-Хлоранилина $C_6H_4(Cl)(NH_2)$	5
(Препарат Кальбаум, бывший в нашем распоряжении, флуоресцировал в щелочном растворе зеленым светом)		o,p-и t-Хлоранилина + 5HCl	
		Гиппуровой к-ты $C_6H_5CO \cdot NH \cdot CH_2CO_2H$	(впреки данным; Дере в растворах препарата, бывшего в нашем распоряжении, видимая флуоресценция отсутствовала)

2 Соединения, содержащие в молекуле несколько фенильных групп. Полиены

№ по порядку	Вещество	Длина волны, мкм										Литература	Примечание			
		260	300	340	380	420	460	500	540	580	620			660	700	740
109	Дифенил $C_6H_5 \cdot C_6H_5$														1,9,10	$A^1, A^9, A^{10}, A^{10'}$
110	<i>p, p'</i> -дибромдифенил* $Br C_6H_4 \cdot C_6H_4 Br$														52	Кр.
111	<i>p, p'</i> -диоксидифенил* $HO C_6H_4 \cdot C_6H_4 NO$														52	Кр.
112	Фениловый эфир* $C_6H_5 \cdot OC_6H_5$														52	Кр.
113	Дифенилен оксид* 														52	Кр.
114	Дибензтиофен* 														52	Кр.
115	Бензофенон $C_6H_5 \cdot CO \cdot C_6H_5$														1	A^1
116	Дибензил $C_6H_5 CH_2 \cdot CH_2 C_6H_5$														1,10	$A^1, A^{10}, A^{10'}$
117	Дифенилметан $C_6H_5 \cdot CH_2 \cdot C_6H_5$														1,10	$A^1, A^{10}, A^{10'}$
118	1,4-дифенилбутан* $C_6H_5 \cdot (CH_2)_4 \cdot C_6H_5$														52	Кр.
119	Тетрафениллова* $(C_6H_5)_4 Sn$														52	Кр.
120	Трифенилметан $(C_6H_5)_3 CH$														1	A^1
121	Бензилдифенил $C_6H_5 \cdot C_6H_4 \cdot CH_2 \cdot C_6H_5$														10	$A^{10'}$
122	<i>p</i> -дифенилбензол (терфенил)* $C_6H_5 \cdot C_6H_4 \cdot C_6H_5$														54, 52	A^{54} Кр.
123	Квартеренил** $C_6H_5 \cdot C_6H_4 \cdot C_6H_4 \cdot C_6H_5$														52	Кр.
124	Дифениламин $(C_6H_5)_2 NH$														1	В
125	Трифениламин $(C_6H_5)_3 N$														1	A^1
126	Тетрафенил-этилен* $(C_6H_5)_2 C = C(C_6H_5)_2$														52	Кр.
127	Пара-нитродиметиламиностильбен* $NO_2 \cdot C_6H_4 \cdot CH = CH \cdot C_6H_4 \cdot N(CH_3)_2$														56	A^{56}
128	Стильбен** $C_6H_5 \cdot CH = CH \cdot C_6H_5$														9,10	σ^9
129	Дифенилбутадиев $C_6H_5 (CH = CH)_2 C_6H_5$														9	σ^9
130	Дифенилгекса триен* $C_6H_5 (CH = CH)_3 C_6H_5$														9	σ^9
131	Дифенилокта триен $C_6H_5 (CH = CH)_4 C_6H_5$														9	σ^9
132	Дифенилдека пентаен $C_6H_5 (CH = CH)_5 C_6H_5$														9	σ^9
133	Дифенилдодексаен $C_6H_5 (CH = CH)_6 C_6H_5$														9	σ^9, A^{16}
134	Дифенилдициетилен при -195° $C_6H_5 \cdot C \equiv C - C \equiv C \cdot C_6H_5$														9	B^9
135	1,1,4,4-тетрафенилбутадиев* $(C_6H_5)_2 (CH = CH)_2 (C_6H_5)_2$														58	A^{58} Кр.
136	1,4-ди(<i>p</i> -метокси)-фенилбутадиев* $CH_3O \cdot C_6H_4 (CH = CH)_2 C_6H_4 \cdot OCH_3$														57	A^{57}
137	Дифенилацетилен (толан)** $C_6H_5 \cdot C \equiv C \cdot C_6H_5$														52	Кр. Z
138	Дицианаилметан $C_6H_5 \cdot CN = CN \cdot CO \cdot CH_2 \cdot CO \cdot CN = CN \cdot C_6H_5$														11	A^{11}
139	Диоксицианаилметан <i>p-p'</i> -OH $\cdot C_6H_4 \cdot CN = CN \cdot CO \cdot CH_2 \cdot CO \cdot CN = CN \cdot C_6H_4 \cdot OH$														12	A^{12}

Установлено отсутствие флуоресценции у растворов соединений
 Бензила $C_6H_5 \cdot CO \cdot CO \cdot C_6H_5$ ¹ Азобензола $C_6H_5 \cdot N = NC_6H_5$ ¹ Аминоазобензола $C_6H_5 \cdot N = NC_6H_4 \cdot NH_2$ ¹

3. Соединение с конденсированными ароматическими ядрами

№ по порядку	Вещество	Длина волны, мик										Литература	Примечания				
		260	300	340	380	420	460	500	540	580	620			660	700	740	
140	Нафталин <chem>C10H8</chem> 															1,2,5, 10,25	A ¹ , A ⁵
141	α-Нартол <chem>C10H7OH</chem>															1	A ¹
142	β-Нартол <chem>C10H7OH</chem>															1	A ¹
143	α-Нартиламиин <chem>C10H7NH2</chem>															1,15	A ¹
144	β-Нартиламиин <chem>C10H7NH2</chem>															1	A ¹
145	Салициловая соль нафтиламиина <chem>C10H7NH2 HCl</chem>															14,15	—
146	α, α'-(γ, β, β')-Динартил <chem>C10H7 C10H7</chem>															52	кр
147	1,2-ди(α-нартил-) этилен <chem>C10H7 C=C C10H7</chem>															52	кр
148	1,4-ди(α-нартил-) бутадиеи <chem>C10H7(C1-C10H7)2 C10H7</chem>															57	A ²⁷
149	Флуорантен* 															52	кр
150	Трифенилен* 															52	кр
151	Антрацен** <chem>C14H10</chem> 															1,13,17, 18,19	A ¹⁷ A ^{18,19}
152	Метилантрацен <chem>C14H10</chem>															52	C, Кр.
153	Антрол <chem>C14H10</chem>															1	A ¹ , E ¹
154	Флуорен <chem>C13H10</chem>															1	A ¹ , E ¹
155	Фенантрен <chem>C14H10</chem> 															20,21,22	B ²⁰ , B ²¹
156	Перилен <chem>C20H12</chem> 															1,13,21	A ¹ , F ¹ , C ²¹
157	Хризен <chem>C18H12</chem> 															21	D ²¹
																10	K ¹⁰

фиолетовый
синий
голубой
зеленый
желтый
оранжевый
красный

№ по порядку	Вещество	Длина волны, мкм												Литература	Примечание			
		260	300	340	380	420	460	500	540	580	620	660	700			740		
156	Декациклен $C_{36}H_{18}$ 																23	A^{23}
159	Трибензилдекациклен $C_{57}H_{36}$ 																23, 24	A^{24}
160	Аценафтен* $C_{10}H_8(CH_2)_2$ 																52	Кр.
161	Аценафтилен* 																52	Кр.
152	Биоцен $C_{24}H_{16}$ 																20, 25, 26	$A^{20, 26, 25}$
153	Флуороциклен $C_{48}H_{28}$ 																20, 25	A^{25}

Установлено отсутствие флуоресценции в видимой части спектра у Аценафтена $C_{12}H_{10}$ в растворе



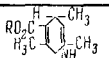


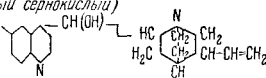

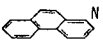
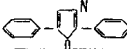
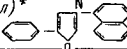
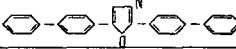
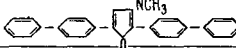
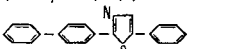
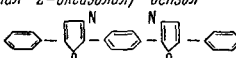

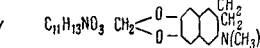
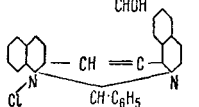


Фиолетовый
Голубой
Зеленый
Желтый
Оранжевый
Красный

* Соединения типа гетероциклических (Производные кумарина, ксантона, флуорана, пиридина, хинолина, акридина и пр.)

№ по порядку	Вещество	Длина волны, мкм												Литература	Примечание			
		260	300	340	380	420	460	500	540	580	620	660	700			740		
164	Эскулин-гликозид диоксикумарина $C_{18}H_{16}O_9$ 																27, 28	K^{27}
165	Ксантон $C_{13}H_8O_2$ 																1	A^1
166	3,6-Диоксиксантон $C_{13}H_8O_4$ 																1	A^1
167	Тетраметилдиаминоксантон $(CH_3)_2NC_6H_3(CO)_2C_6H_3N(CH_3)_2$ 																1	A^1
166	Флуоран $C_{20}H_{12}O_2$ 																1, 28	A^1
169	Флуорасцеин в щелочном растворе $C_{20}H_{12}O_2$ 																28, 29, 30, 31, 32, 33	A^{29}, A^{31}
170	Зозин Na - тетрабромфлуорасцеин $C_{20}H_8O_2Br_4Na$ 																28, 32, 35	—
171	Зретрозин Na - тетрабромфлуорасцеин $C_{20}H_8O_2Br_4Na$ 																28, 29, 32, 35	A^{29}
172	Родамин $C_{26}H_{27}O_3N_2$ 																27, 29, 32, 36	A^{29}, K^{27}
173	α -Аминопиридин $10 HCl$ 																5	A^5
174	α -Аминопиридин $10 HCl$ 																5	A^5
175	α -Аминоникотиновая к-та $5 HCl$ 																5	A^5
176	α -Аминоникотиновая к-та $5 HCl$ 																5	A^5
177	α -Аминоникотиновая к-та $NaOH$ 																5	A^5





Фиолетовый
Голубой
Зеленый
Желтый
Оранжевый
Красный

4 Соединения типа гетероциклических (производные кумарина, пиридина, хинолина, акридина, ксантона, флуорана и пр.)

№ по пар	Вещество	Длина волны, мкм										Температура	Примечание				
		260	300	340	380	420	460	500	540	580	620			660	700	740	
178	Эфир дигидроаквалинкарбонной кислоты 															5	A ⁵
179	Хинолин C ₉ H ₇ N 															5	A ⁵
180	Хинолин + 5HCl															5	A ⁵
181	Тетрагидрохинолин C ₉ H ₁₁ N 															5	A ⁵
182	Тетрагидрохинолин + 5HCl															5	A ⁵
183	Хинин (кислый сернокислый) CH ₃ O CH(OH) 															28	—
184	Изохинолин C ₉ H ₇ N 															5	A ⁵
185	Изохинолин + 5HCl															5	A ⁵
186	бензохинолин 															52	Кр
187	2,5-дифенил-оксазол* [PPO] 															53	A ⁵³
188	α-нафтил (-фенил-оксазол)* [α-NPO] 															55	A ⁵³
189	2,5-ди (p-дифенилил)-оксазол* (BBO) 															55	Кр
190	(MBBO)* 															55	
191	2-фенил-5 (4-дифенил)-1,3,4-оксадиазол* [PBD] 															54	A ⁵⁴
192	p-ди (5-фенил-2-оксазолил)-бензол* [PPOP] 															52	Кр и
193	Карбазол* C ₈ H ₄ NH C ₆ H ₄ 															52	Кр
194	Гидростинин C ₁₁ H ₁₃ NO ₃ CH ₂ O O CH ₂ N(CH ₃) 															38	A ³⁸
195	Изохинилрат C ₂₆ H ₁₉ H ₂ Cl CHOH CH = C CH-C ₆ H ₅ 															32	—
196	Индол C ₈ H ₇ N 															39	A ³⁹
197	Акридин C ₁₃ H ₉ N 															34	A ³⁴

Ультра-
фиолетовый
Синий
Голубой
Зеленый
Желтый
Оранжевый
Красный

№ по пер	Вещество	Длина волны, мкм											Литература	Примечание			
		260	300	340	380	420	460	500	540	580	620	660			700	740	
198	Акридин в хлосл. растворе															34	А ^{34*}
199	Метилакридин C ₁₄ H ₁₁ NO															37	—
200	Метиллакридин в кислой среде															37	—
201	Родулин — оранж															29	А ^{29,32}
202	Эйхридин ЗР C ₁₇ H ₁₉ N ₃															32	А ^{29,32}
203	Бензофлабин C ₂₁ H ₁₉ N ₃															32,40	А ^{32,40}
204	Реолин C ₂₃ H ₂₄ N ₄															32	А ³²
205	Резаруфин C ₁₂ H ₇ NO ₃															28	—
206	Резарсинблау — тетрабромрезаруфин															28	—
207	Магдаловый красный C ₃₀ H ₂₁ NCl															28	—

Установлено отсутствие флуоресценции в видимой части спектра у следующих веществ в газообразном состоянии:
 пиридин , пиррал , фуран , тиофен  А³⁹

*) См. уточнение спектра, гл. II, стр. 38.

3) Порфирины 1) Хлорофилл

№ по пер	Вещество	Длина волны, мкм											Литература	Примечание			
		260	300	340	380	420	460	500	540	580	620	660			700	740	
208	Этиопорфирин															41,42,43	А ⁴²
209	Этиопорфирин b N·HCl															41,42,43	А ⁴²
210	Протопорфирин															42	А ⁴²
211	Протопорфирин b 2N·HCl															42	А ⁴²
212	Уропорфирин															42	А ⁴²
213	Уропорфирин b 2N·HCl															42	А ⁴²
214	Копропорфирин															42	А ⁴²
215	Копропорфирин b 2N·HCl															42	А ⁴²
216	Мезопорфирин															42,44,45	А ⁴²
217	Мезопорфирин b 2N·HCl															42	А ⁴²
218	Гематопорфирин															42,44,46	А ⁴²
219	Гематопорфирин b 2N·HCl															42	А ⁴²
220	Хлорофилл a C ₃₂ H ₃₀ OH ₄ Mg															42,47,48,49	—
221	Хлорофилл b C ₃₂ H ₂₈ N ₄ MgO ₂															42,49	—

1) См. примечания E и F

Фио-
лето-
вый
Синий
Голубой
Зеленый
Желтый
Оранжевый
Красный

Примечания к приложению II

Ссылки на эти примечания даны в 4-м столбце таблиц

А¹. В работе Штарка и Штейбинга было обращено большое внимание на чистоту препаратов; приводимые данные относятся, если нет оговорок, к спиртовым растворам концентрации $4 \cdot 10^{-4}$ г/мл или к концентрации в четыре раза меньшей — $1 \cdot 10^{-4}$ г/мл.

А². Рейман изучал спектр флуоресценции бензола в различных агрегатных состояниях. Относительно флуоресценции бензола в газообразном состоянии имеются подробные данные у J. K. M a r s h, J. Chem. Soc. 123, 820 (1923); 3315 (1923).

А⁴. Анри изучал спектры флуоресценции бензола в спиртовом растворе и в гексане. Спектр, по его данным, состоит из 6 полос с максимумами 300,5; 291,7; 284,7; 276,6; 270,1 и 265,9 *ммк*.

А⁵. Данные Лея относятся к спиртовым растворам; в большинстве случаев изучались 0,005 н растворы (при пересчете на концентрацию в *г/мл* получаем для бензойной кислоты концентрацию $6,1 \cdot 10^{-4}$ *г/мл*). Чистота препаратов проверялась сравнением спектров флуоресценции отдельных фракций, получаемых в процессе очистки вещества. Источник света — ртутная лампа, освещавшая раствор сверху. Интенсивность свечения определялась объективным сравнением почернения наиболее темной части спектров препаратов; едва заметное почернение принималось за единицу, максимальное — за 25.

В⁵. По Лею, йодбензол не флуоресцирует, и, кроме того, наблюдается фотохимическое выделение йода.

С⁵. Интересное указание Лея, что флуоресценция фенола порозовевшего и чистейшего (от Кальбаума) идентична.

б¹. Штарк и Штейбинг объясняют идентичность спектров флуоресценции хинона и гидрохинона фотохимическим образованием гидрохинона в растворах хинона — факт, ранее обнаруженный и химическим путем (Ciamician G. и Silber P.).

С¹. Штарк и Штейбинг отмечают исключительно малую интенсивность свечения растворов флороглюцина, объясняют это отсутствием в флороглюцине структуры бензола и связывают это со склонностью флороглюцина реагировать как трикетон.

А. Для анилина спектр флуоресценции детально изучен Прилежаевой. (П р и л е ж а е в а и Ч у б а р е в, *Acta physico-chimica URSS* 1, 777, 1935). В парообразном состоянии полоса флуоресценции лежит в интервале длин волн 2800—3767 Å.

А^{1,5,7}. Альбрехт в статье, посвященной хемилюминесценции, приводит для максимума спектра флуоресценции бензойной кислоты в щелочном растворе длину волны 4230 Å (пунктирная кривая в таблице); между тем, по Лею и по Штарку, флуоресценция спиртового раствора бензойной кислоты лежит в ультрафиолете; при прибавлении щелочи она значительно ослабляется, но сдвигается незначительно (3278—3920 Å по Лею). Таким образом, флуоресценция, наблюдаемая Альбрехтом, является, по-видимому, результатом загрязнения бензойной кислоты.

А⁷. По Альбрехту, максимум спектра флуоресценции щелочного раствора фталевой кислоты лежит при $\lambda = 4240$ Å (соответствующая кривая дана пунктиром); очевидно, в распоряжении Альбрехта были препараты химически нечистые.

а⁵. Лей не приводит длин волн спектров флуоресценции фталевого ангидрида и имида фталевой кислоты, так как флуоресценция их была слишком слаба для фиксации начала и конца спектров.

А⁸. В работе [8] приводится микрофотограмма спектра флуоресценции фталевого ангидрида в твердом состоянии; максимум ее лежит между 408 и 436 *ммк*.

а⁷. В работе Альбрехта указан максимум для флуоресценции 3-аминофталгидразида в кислом растворе, 4370 Å.

В⁸. В работе [8] даны микрофотограммы спектров флуоресценции гидразида 3-аминофталевой кислоты в твердом состоянии (для белой формы) и в водных растворах (для желтой и белой формы). Все три максимума лежат в интервале длин волн 408—436 *ммк*.

В⁷. Альбрехт дает кривые для щелочных растворов аминокислот. Максимум для *о*-аминобензойной кислоты лежит при 4230 Å.

Д⁵. Лей наблюдал у фениламиноуксусной кислоты две полосы флуоресценции.

А¹⁰. Титейка наблюдал спектры флуоресценции дифенила, дифенилметана, дибензила, нафталина и фенантрена в спиртовых растворах.

А⁹. В работе Гауссера с сотрудниками спектра флуоресценции дифенила не дано; отмечены его сложность и резкое отличие от спектров полиенов.

А^{10'}. В работе Титейка приведены максимумы сплошной полосы флуоресценции дифенила: 3022, 3086, 3250, 3408 и 3582 Å и дибензила: 3318, 3468 и 3850 Å.

А^{10''}. В работе Титейка для полосы флуоресценции дифенилметана указывается 9 максимумов; полоса, по Титейке, начинается с 2770 Å, достигает максимальной интенсивности при 2850 Å и затем убывает, простираясь за 4520 Å.

А^{10'''}. Титейка описывает флуоресценцию растворов дифенилбензила как слабую с несколькими максимумами и как сходную с дифенилом. Указанные им максимумы нанесены черточками.

В. Спектр дифениламина изучен Прилежаевой (*Acta physico-chimica URSS* 1, 781, 1935) в парообразном состоянии. Спектр от 2400 до 4000 Å с максимумом при 3500 Å.

а⁹. Приведенные кривые спектров флуоресценции стильбена и полиенов представляют пересчитанные на длины волн микрофотограммы для их растворов в ксилоле по работе Гауссера с сотрудниками.

А¹¹. По данным Раковера, флуоресценция дицинамоилметана чрезвычайно слаба спектры снимались при экспозиции от 2 до 4 часов. Ввиду сильного поглощения флуоресценция изучалась на бензольных растворах чрезвычайно малой концентрации

В процессе освещения желтый раствор обесцвечивается — протекает фотохимическая реакция. Раковер, не приводя кривой почернения, описывает две полосы флуоресценции с максимумами 4390 и 4600 Å.

A¹². Марковская наблюдала флуоресценцию раствора диоксидидинамоилметана в бензольном растворе; по ее данным, имеются два максимума: при 4540 и 4780 Å.

A¹⁶. В работе Брука сравниваются микрофотометрические кривые спектров флуоресценции полифенолов лаколя $C_6H_3 \cdot (OH)_2 \cdot C_{16}H_{29}$, мореакколя $C_6H_2(OH)_2 \cdot (CH_3) \cdot (C_{16}H_{29})$ и продуктов замещения в них водорода в фенольной группе. Автор показывает, что при восстановлении двойных связей в боковой цепи флуоресценция почти пропадает и обуславливается, следовательно, ими.

B⁹. Приведенная кривая представляет собой пересчитанную на длины волн кривую, данную Гауссером с сотрудниками для флуоресценции дифенилдиацетилен при $t^\circ = -196^\circ$. При комнатной температуре дифенилдиацетилен заметно не флуоресцирует.

A^{18, 19}. В работе [19] сравниваются спектры флуоресценции антрацена в трех агрегатных состояниях. Положение максимумов полос флуоресценции спиртовых растворов антрацена: по Шипловскому — 383, 405, 429, 447 м.м.к.; по Доуэллу — 403, 425, 450, 481 м.м.к.

A¹⁷. В работе Григлевич даны спектры флуоресценции растворов антрацена в парафиновом масле при разных температурах.

C. В работе И. В. Обреимова, А. Ф. Прихотько и К. Г. Шабалдаса (ЖЭТФ 6, 1062, 1936) даются полосы флуоресценции кристаллического антрацена, ранее изучавшегося и М. Доуэллом.

E¹. Штарк и Штейбинг полагают, что сходство спектров метилантрацена и антрола со спектром антрацена обуславливается фотохимическим выделением последнего при фотографировании флуоресценции первых.

B²⁰. Тваровская не дает кривой почернения для спектра флуоресценции растворов флуорена, но приводит длины волн максимумов четырех полос: 389; 407,5; 432 и 456 м.м.к.; они и нанесены в таблице.

B²¹. Сехан в алкогольных растворах флуорена наблюдал полосы при длинах волн 362, 380, 397, 424 и 449 м.м.к.

F¹. Штарк и Штейбинг отмечают, что в спектре флуоресценции фенантрена имеются полосы, характерные для антрацена, и объясняют это образованием антрацена в результате фотохимической реакции.

C²¹. В работе Сехан не приведены кривые спектров флуоресценции фенантрена, но указано для его спиртового раствора положение четырех наблюдавшихся полос: 384, 399, 425 и 449 м.м.к. (нанесены в таблице черточками).

D²¹. В работах Сехан приведены длины волн двух полос, наблюдавшихся для перилена в спиртовом растворе, 469 и 440 м.м.к.

K¹⁰. В работе Титейка флуоресценция хризена описывается как слабая; указано положение трех максимумов: 3400, 3630 и 3850 Å.

A²³. В работе Кларнера флуоресценция бензольных растворов декациклена возбуждалась дуговой лампой. Указано положение максимумов четырех наблюдавшихся полос: 5950, 5520, 5105 и 4765 Å.

A²⁴. В работе Маргулис дана микрофотограмма спектра флуоресценции трибензилдекациклена и указаны положения трех максимумов в 26 растворителях. В спиртовом растворе максимумы лежат при 4833, 5177 и 5530 Å.

A²⁵. Гурвич наблюдал флуоресценцию биацена и флуороциклена в бензольном растворе. Для четырех полос биацена приведены максимумы 4158, 4343, 4628 и 5034 Å. Для флуороциклена максимумы трех ярких полос — 4060, 4390, 4585 Å и четвертой, более слабой, 5030 Å.

A^{20, 26}. В работе Тваровской спектры флуоресценции биацена даются в 5 растворителях²⁶ и сравнивается флуоресценция в кристаллическом состоянии и в растворе²⁰.

K²⁷. В работе [27] даны кривые спектрального распределения энергии в спектрах флуоресценции спиртового раствора эскулина и родамина В, отличного от родамина ВЖ тем, что все 4 водорода аминогрупп замещены алкилами. Помимо кривых, отвечающих стоксовскому возбуждению, Гумерман приводит кривые спектрального распределения энергии в спектрах флуоресценции при возбуждении светом больших длин волн.

A²⁹. В работе Левшина даны кривые спектрального распределения энергии в спектре флуоресценции растворов натрий-флуоресцеина, эритрозина, родамина ВЖ экстра и родулин-оранжа NO.

A³¹. По Штарку и Мейеру, флуоресцеин помимо полосы флуоресценции в видимой области имеет еще вторую в ультрафиолете с максимумом при длине волны 310 м.м.к.

A³⁴. Данные относительно флуоресценции акридина в кислой среде, а равным образом спиртовых растворов акридина, приведены на основании микрофотограмм снятых нами спектров.

A^{29,32}. Как видно из приведенных формул, молекула красителя в родулин-оранже NO и в эйхризине одна и та же. При сравнении обеих кривых следует иметь в виду, что кривая для родулина воспроизводит спектральное распределение энергий, измеренное и вычисленное Левшиным с большой точностью и тщательностью. Кривая же эйхризина представляет кривую почернения, полученную Врэсинским для раствора в глицерине с 20% воды.

A³². Кривые, приведенные в [32] для бензофлавина и реонина, представляют собой кривые почернения спектров флуоресценции растворов в глицерине с 20% воды.

A³⁸. Приводимая микрофотограмма спектра флуоресценции гидрастинина любезно предоставлена мне Сущинским, получившим ее для раствора продажного лечебного препарата. Хотя химическая чистота этого препарата и не гарантирована, однако исключительная яркость свечения данного алкалоида ограничивает возможность искажения спектра загрязнениями.

A³⁹. Фиалковская изучала флуоресценцию пиридина, индола, фурана, тифена, хинолина и пирола в газообразном состоянии; флуоресцирующими оказались только индол и хинолин. Спектр флуоресценции индола расположен в области 3250—2900 Å, никаких деталей относительно структуры спектра Фиалковская не приводит.

A⁴⁰. В работе Тваровской сопоставляются спектры флуоресценции бензофлавина в кристаллическом состоянии и в растворе.

A⁴². Дере изучал флуоресценцию порфиринов в растворе пиридина. При прибавлении кислоты он наблюдал смещение полос в сторону коротких длин волн. Прибавление щелочи на флуоресценции существенно не сказывалось. Черточками в таблице нанесены максимумы полос флуоресценции по Дере. В книге Дере приведены не только положения максимумов, но интервалы длин волн для каждой из полос.

Е. Сравнение приведенных спектров отдельных порфиринов дает картину степени зависимости спектров от изменений структуры молекулы.

Ф. В тесной связи с порфиринами стоят пигменты желчи — билирубин и продукты его окисления и изменения — билевердин, уробилиноген, мезобилурбин и т. д. Во всех этих соединениях пирроловые кольца связаны метиновыми группами в открытые цепочки (в отличие от порфиринов, где мы имели замкнутые кольца). Многие из этих соединений обладают яркой флуоресценцией зеленого цвета. В книгах Дере мы находим ряд интересных и довольно точных ее описаний. Данные эти не укладываются, однако, в наши таблицы, так как они даются для веществ в биологическом, а не в химическом понимании: строго определенной структуры каждого из них привести не удается.

A^{53,54}. Приведены характеристики спектров (положения максимумов), описанные для растворов в толуоле.

A⁵⁶. Приведенная кривая относится к раствору в CCl₄. Область люминесценции этого соединения изменяется в зависимости от растворителя. Раствор в циклогексане люминесцирует зеленовато-голубым, а в пиридине — красным светом.

A⁵⁷. Приведенная кривая дана для раствора в бензоле; исследованы также спектры люминесценции (приведены максимумы) растворов некоторых других замещенных бутадиенов. Заместители: фенильные группы, нафтильные и толильные.

A⁵⁸. Кривая и положение максимума в спектре приведены для раствора в гептане. Положение максимума люминесценции раствора тетрафенилбутадиена в бензоле совпадает с положением его в гептане, однако интенсивность люминесценции раствора в бензоле меньше, чем в гептане. В работе приводятся положения максимумов в спектрах люминесценции растворов некоторых других замещенных бутадиенов и гексатриенов. Заместители: фенильные, метильные радикалы, а также радикалы пиридил и хинолил.

Л. Автор приводит два спектра люминесценции толана, максимумы которых немного смещены друг относительно друга.

У. В литературе имеются достоверные данные в отношении спектра люминесценции POFOP в кристаллическом состоянии. Однако это соединение применяется сейчас очень широко, как один из компонентов жидкого сцинтиллятора (в растворе толуола или ксилола с терфенилом или 2,5-дифенилоксазолом). Максимум люминесценции раствора по сравнению с кристаллическим веществом смещен в более коротковолновую область.

ЛИТЕРАТУРА К ПРИЛОЖЕНИЮ II

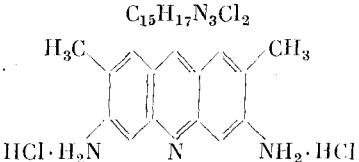
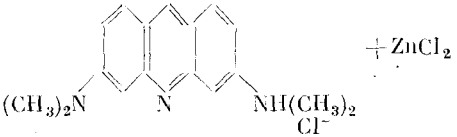
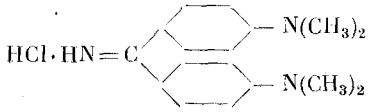
Ссылки на этот указатель приведены в 3-м столбце таблиц

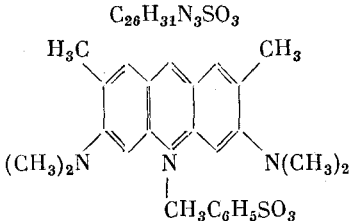
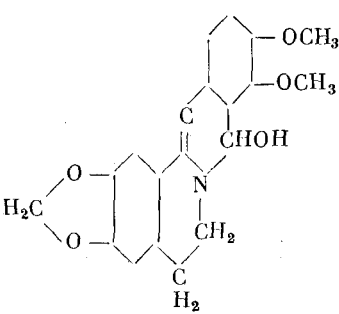
1. I. Stark u. W. Steubing, Phys. Zs. 9, 486 (1908).
2. A. L. Reimann, Ann. d. Phys. 80, 43 (1926).
3. J. K. Marsch, J. Chem. Soc. 123; 820, 3315 (1923); Phil. Mag. 49, 971 (1925).
4. V. Henri, Journ. de Phys. et de Radium (6) 3, 18 (1922).
5. H. Ley u. K. Engelhardt, Zs. f. Phys. Ch. 74, 30 (1910).
6. F. Dickson, Zs. f. Photogr. u. Photoch. 10, 166 (1912).

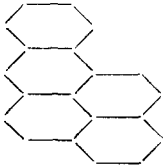
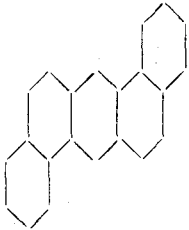
7. Н. О. Albrecht, Zs. f. Phys. Chem. 136, 329 (1928).
8. Б. Я. Свешников, Acta physico-chimica URSS 8, No. 4, 444 (1938).
9. K. W. Hausser, R. Kuhn u. E. Kuhn, Zs. f. phys. Ch. B. 29, 452 (1935).
10. R. Titeica, Acta phys. Pol. 5, 383 (1936).
11. E. Rakover, Acta phys. Pol. 3, 416 (1934).
12. Markowska, Kaz, Acta phys. Pol. 6, 235 (1937).
13. И. В. Обреимов, А. Ф. Прихотько и К. Г. Шабалдас, ЖЭТФ 6, 10, 1062 (1936).
14. Handbuch der Physik, XXI, 1929. Статья II. Leu, стр. 721.
15. H. Leu u. Gräfe, Zs. f. Wiss. Photographie 8, 294 (1910).
16. G. Brooks, C. R. 207, 726 (1938).
17. Gryglewicz, Acta phys. Pol. 6, 214 (1937).
18. M. Dowell, Phys. Rev. 26, 155 (1908).
19. А. А. Шишловский, ДАН, XV, 29 (1937).
20. B. Twarowska, Acta phys. Pol. 4, 359 (1935).
21. R. K. Sechan, Trans. Farad. Soc. 32, No. 4, 689 (1936).
22. E. Goldstein, Phys. Zs. 12, 615 (1911).
23. B. Klarner, Acta phys. Pol. 2, 1 (1933).
24. P. Margulius, Acta phys. Pol. 3, 373 (1934).
25. B. Hurwicz, Acta phys. Pol. 1, 341 (1932).
26. B. Twarowska, Acta phys. Pol. 2, 268 (1933).
27. Л. А. Тумерман, Тр. Физич. ин-та АН СССР 4, 77 (1938).
28. E. L. Nichols a. E. Merritt, Phys. Rev. 30, 328 (1910); 19, 23 (1904).
29. В. Л. Левшин, Zs. f. Phys. 72, 368 (1931); Ж. физ. хим. 1, вып. 5, 642 (1931).
30. S. Scheniowski, C. R. Soc. Polon. phys. 3, 60 (1927); цитировано по P. Pringsheim, Handbuch der Physik, XXI, 574, 1929.
31. I. Stark u. R. Meyer, Phys. Zs. 8, 250 (1907).
32. A. Wrzesinski, Acta phys. Polon. 4, 485 (1935).
33. P. Ramart-Lucas, C. R. 205, No. 26, 1409 (1937).
34. А. Константинова-Шлезингер, Люминесцентный анализ, Изд. АН СССР, 1948.
35. В. Л. Левшин, Acta physico-chimica URSS 2, 223 (1935); Ж. физ. хим. 6, вып. 8, 991 (1935).
36. В. Л. Левшин, Acta physico-chimica 1, 685 (1934).
37. A. Schöntag u. H. Fischer, Zs. f. phys. Ch. 39, H. 5/6, 411 (1938).
38. Микрофотограмма М. М. Сущинского См. [34].
39. О. В. Фиалковская, Acta physico-chimica 9, 215 (1938).
40. B. Twarowska, Acta phys. Polon. 4, 359 (1935).
41. Ch. Dhéré et J. Aharoni, C. R. 190, 1499 (1930).
42. Ch. Dhéré, Nachweis der biologisch wichtigen Körper, 3233, 1933; Ch. Dhéré, La fluorescence en biochimie, 165—202, 1937.
43. Ch. Dhéré et E. Bois, C. R. 183, 321 (1926).
44. H. Hellstrom, Zs. f. Phys. Chem., 12, 353 (1931).
45. K. W. Hausser, R. Kuhn u. G. Seitz, Zs. f. Phys. Chem. 29, 415 (1935).
46. Ch. Dhéré, A. Schneider u. Th. Vom, C. R. 179, 351 (1924).
47. H. V. Knorr u. V. M. Albers, Phys. Rev. 43, 379 (1933); 46, 336 (1934).
48. E. L. Nichols a. E. Merritt, Phys. Rev. 19, 18 (1904).
49. Ch. Dhéré, C. R. 158, 64 (1914); 155, 653 (1912).
50. П. Приндсхейм и М. Фогель, Люминесценция жидких и твердых тел, Москва, ИЛ, 1948.
51. K. Pflaumer, Chem. Ber. Festschrift 611, 1942.
52. R. C. Sangster, J. W. Groine, J. Chem. Phys. 24, 670 (1956).
53. D. G. Ott, F. N. Hayes, E. Hansbury, V. N. Kerr, J. Amer. Chem. Soc. 79, 5448 (1957).
54. Р. К. Свэяк, УФН 58, вып. 3, 519 (1956); Ann. Rev. Nucl. Sci. 4, 111 (1954).
55. R. K. Swenk, Nucleonics 12, № 36, 26 (1954).
56. E. Lippert, J. Phys. et Rad. 15, 627 (1954).
57. G. Hirshberg, E. Bergmann, F. Bergmann, J. Amer. Chem. Soc. 72, 5117 (1950).
58. А. Н. Никитина, М. Д. Галанин, Г. С. Тер-Саркисян, Б. М. Михайлов, Оптика и спектроскопия 6, № 3, 354 (1959).
59. P. Pesteil M. Barbaron, C. R. 236, № 18, 1763 (1953). Рефер. журнал физ., 1954 г., № 2, 233 (№ 2102).
60. Liquid Scintillation Counting, London, New York, Paris, Los Angeles, 1958; Proceedings of Conference held at North-western University, August, 1957; Editors: Carlos G. Bell; F. Newton-Hayes (North-western University, Los Alamos).

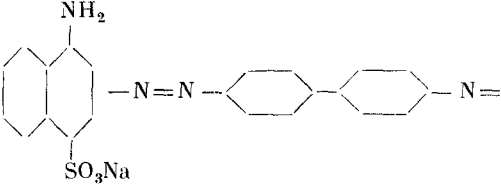
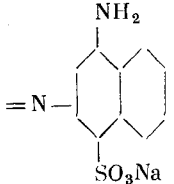
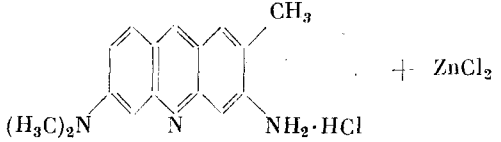
III. ГЛАВНЕЙШИЕ ФЛУОРОХРОМЫ ДЛЯ ЛЮМИНЕСЦЕНТНОЙ МИКРОСКОПИИ

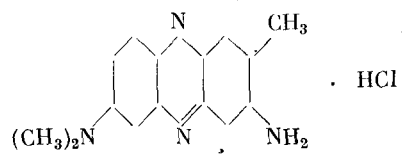
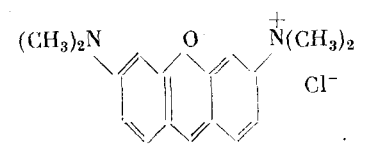
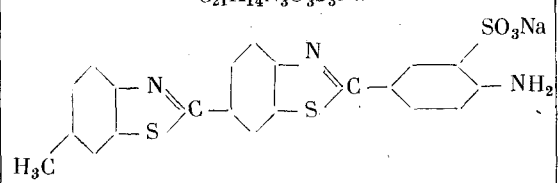
(выпускаются отечественной промышленностью)

№ п/п	Наименование	Химическое название и формула	Свойства	Люминесценция		Применение
				Длина волны максимума полосы, микр	Цвет	
1	Акридиновый желтый	<p>Дихлоридрат 3,6-диамино-2,7-диметилакридина</p> $C_{15}H_{17}N_3Cl_2$ 	Порошок коричневого цвета; растворим в воде и спирте		В малой концентрации — зелено-желтый	Для выявления гонококков, туберкулезных бактерий, для флуорохромирования нервных клеток
2	Акридиновый оранжевый Синоним: эйкризин 3R	<p>Хлоридрат 3,6-бидиметиламиноакридина с хлоридом цинка</p> $C_{17}H_{20}N_3Cl + ZnCl_2$ 	Кристаллический порошок оранжевого цвета; растворим в воде	585	В малой концентрации — зеленый. В большой концентрации — красный	Универсальный флуорохром для контрастирования ядер и нуклеиновых кислот, для выявления опухолевых клеток
3	Аурамин	<p>Хлоридрат тетраметилдiamiнобензофеномина</p> $C_{17}H_{22}N_3Cl$ 	Золотисто-желтый порошок; растворим в воде, спирте, бензоле	490—590	Зеленый	Для выявления кислотоустойчивых бактерий (туберкулез, проказа), рикетсий и некоторых вирусов

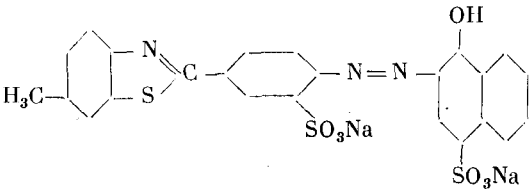
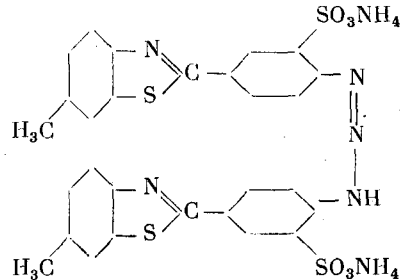
№ п/п	Наименование	Химическое название и формула	Свойства	Люминесценция		Применение
				Длина волны максимума полосы, мкм	Цвет	
4	Аурофосфин	$C_{26}H_{31}N_3SO_3$ 	Порошок каштанового цвета, с красным оттенком; растворим в воде	—	Зеленый	Флуорохром общего значения в микробиологии, цитологии. В гистологии — преимущественно для выявления нервной ткани
5	Берберин—алкалоид из коры барбариса	$C_{20}H_{19}NO_5$ 	Порошок желтого цвета; растворим в воде	—	В адсорбированном состоянии золотисто-желтый	Для прижизненного флуорохромирования митохондрий у микроорганизмов и сферозом в клетках высших растений; для выявления ядер и нервных волокон на фиксированных препаратах

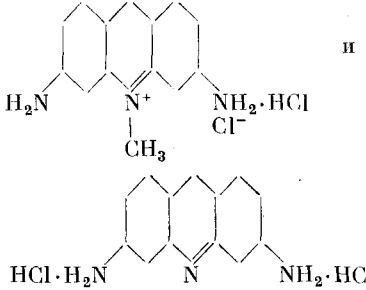
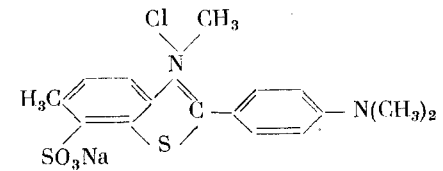
№ п/п	Наименование	Химическое название и формула	Свойства	Люминесценция		Применение
				Длина волны максимума полосы, мик	Цвет	
6	Бензпирен	3,4-бензпирен $C_{20}H_{12}$ 	Желтый порошок, нерастворим в воде; растворим в ацетоне	Группы полос; 400—432	Сине-фиолетовый	Для выявления жиров и липоидов, в том числе «скрытых» липоидов
7	Дибензантрацен	Дибензантрацен 	То же	3 полосы 390—460	Синий	То же

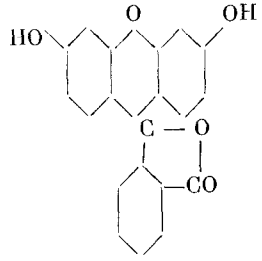
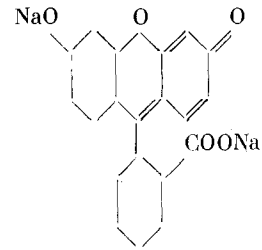
№ п/п	Наименование	Химическое название и формула	Свойства	Люминесценция		Применение
				Длина волны максимума полосы, мμ	Цвет	
8	Конго красный	<p>Динатриевая соль бифенил-4, 4-бис (азо-2-амино-нафталин-4-сульфокислота)</p> $C_{32}H_{22}N_6 - O_6S_2Na_2$  	Порошок красновато-коричневого цвета, нерастворим в органических растворителях, хорошо растворим в горячей воде	—	Тускло-красный	Для контрастирования; дополнительный краситель в комбинации с акридиновым оранжевым и другими флуорохромами
9	Корифосфин	<p>Хлоргидрат 2-метил-3-амино-6-диметиламиноакридина с хлоридом цинка</p> $C_{16}H_{18}N_3Cl + ZnCl_2$ 	Порошок красновато-коричневого цвета; растворим в воде	—	Зеленый	Универсальный краситель для цитологии и гистологических целей, для выявления ядерных структур. В микробиологии — для бактериоскопической идентификации дифтерийных бактерий

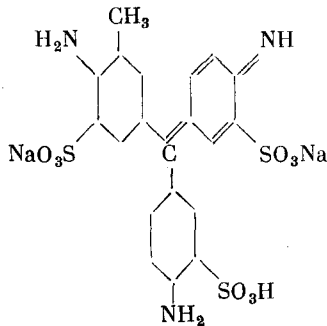
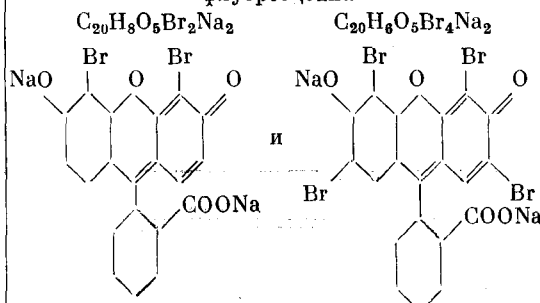
№ п/п	Наименование	Химическое название и формула	Свойства	Люминесценция		Применение
				Длина волны максимума полосы, мμ	Цвет	
10	Нейтральный красный	Хлоридрат 2-метил-3-амино-6-диметил-амино-феназина $C_{15}H_{17}N_4Cl$  $\cdot HCl$	Кристаллический порошок черного или черно-зеленого цвета; хорошо растворим в воде	—	В восстановленной форме — желтый	Для выявления жиров и липоидов
11	Пиронин Ж	Тетраметил-диаминоксантониум-хлорид $C_{17}H_{19}ON_2Cl$  Cl^-	Кристаллический порошок с металлическим блеском; растворим в воде; трудно растворим в спирте, нерастворим в эфире	—	Желто-зеленый	Как индикатор для определения концентрации водородных ионов, преимущественно в ботанической цитологии
12	Примулин	Примулиновый желтый $C_{21}H_{14}N_3O_3S_3Na$ 	Темно-желтый порошок; растворим в воде	—	Сине-зеленый (фиолетовый); в адсорбированном состоянии — желтый	Для выявления элементарных телец вирусов и различных живых и мертвых клеток (особенно в микробиологии и микологии)

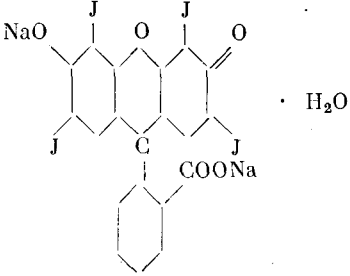
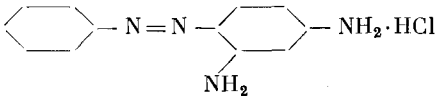
№ п/п	Наименование	Химическое название и формула	Свойства	Люминесценция		Применение
				Длина волны максимума полосы, мкм	Цвет	
13	Родамин Б	<p>Тетраэтилдиаминофлуоресцеин</p> $\text{C}_{28}\text{H}_{31}\text{O}_3\text{N}_2\text{Cl}$	Красно-фиолетовый порошок или зеленые кристаллы; хорошо растворим в воде и спирте	605 550—700	Красный	Краситель общего значения, особенно в цитологии, вирусологии, микробиологии, энтомологии
14	Родамин 6Ж. Синонимы: родамин 6ЖХ и 6ЖДН	<p>Этиловый эфир диэтил-диамино-флуорап</p> $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{O}_3\text{N}_2\text{Cl}$	Порошок коричневого цвета, растворим в воде	580	Желтый	То же

№ п/п	Наименование	Химическое название и формула	Свойства	Люминесценция		Применение
				Длина волны максимума полосы, м.мк	Цвет	
15	Тиазиновый красный	$C_{24}H_{15}N_3O_7S_3Na_2$ 	Порошок коричневого цвета; хорошо растворим в воде	—	Тускло-красный	Для комбинированного окрашивания гистологических препаратов; для выявления серозных выпотов и различных патологических изменений в органах
16	Титановый желтый	Тиазоловый желтый $C_{28}H_{27}O_6N_7S_4$ 	Порошок желтого или красного цвета; растворим в воде	—	В адсорбированном состоянии—желтый	Краситель общего значения в цитологии и гистологии

№ п/п	Наименование	Химическое название и формула	Свойства	Люминесценция		Применение
				Длина волны максимума полосы, мик	Цвет	
17	Трипфлавин	Смесь солянокислых солей хлорида 3,6-диамино-10-метилакридиниума и 3,6-диаминоакридина $C_{14}H_{14}N_3Cl \cdot HCl$ $Cl_{13}H_{11}N_3 \cdot 2HCl$ 	Кристаллический порошок оранжевого или буровато-красного цвета; растворим в воде и спирте	460—580 520	Желто-зеленый	Краситель общего значения в цитологии, микробиологии и вирусологии
18	Тиофлавин	Сульфонатриевая соль солянокислого тетраметилтиофлавина 	Желтый кристаллический порошок; растворим в воде	—	Зеленый	Для флуорохромирования жиров и липоидов, мякотных оболочек нервов, лейкоцитов крови

№ п/п	Наименование	Химическое название и формула	Свойства	Люминесценция		Применение
				Длина волны максимума полосы, м.мк	Цвет	
19	Флуоресцеин	<p>Резорцилфталейн</p> $C_{20}H_{12}O_5$ 	Кристаллический желтовато-коричневый порошок, нерастворимый в воде, растворим в спирте и уксусной кислоте	—	Зеленовато-желтый	В виде спиртовых растворов в гистологии; изоцианат флуоресцеина—для люминесцентной метки белков
20	Уранин	<p>Натриевая соль флуоресцеина</p> $C_{20}H_{10}O_5Na_2$ 	Кирпично-красный порошок; растворим в воде	—	Желто-зеленый	Широко используется в медицинских и физиологических исследованиях, особенно для прижизненной люминесцентной микроскопии

№ п/п	Наименование	Химическое название и формула	Свойства	Люминесценция		Применение
				Длина волны максимума полосы, мкм	Цвет	
21	Фуксин кислый	<p>Динатриевая соль трисульфокислоты розанилина с примесью натриевых солей других сульфокислот розанилина и парарозанилина</p> $C_{20}H_{17}N_3O_9S_3Na_2$ 	Темно-зеленые кристаллы с металлическим блеском; растворим в воде	555—640	Оранжевый	Дополнительный краситель для контрастирования акридинового оранжевого, корифосфина и других флуорохромов
22	Эозин Н	<p>Смесь динатриевых солей дибром- и тетрабром-флуоресцеина</p> $C_{20}H_9O_5Br_2Na_2 \quad C_{20}H_9O_5Br_4Na_2$ 	Порошок бурого-красного цвета; хорошо растворим в воде	580 540—640	Желтый	Для дополнительного флуорохромирования микроскопических препаратов; для окраски мышечных и коллагеновых волокон

№ п/п	Наименование	Химическое название и формула	Свойства	Люминесценция		Применение
				Длина волны максимума полосы, мик	Цвет	
23	Эритрозин	<p>Тетраиодфлуоресцеин $C_{20}H_6O_5 - J_4Na_2H_2O$</p> 	Кристаллический порошок красного цвета, растворим в воде		Желтый	Для дополнительного флуорохромирования микроскопических препаратов; для окраски мышечных и коллагеновых волокон
24	Хризозин	<p>Хлоридрат 2,4-диаминоазобензола $C_{12}H_{13}N_4Cl$</p> 	Красно-коричневый кристаллический порошок, растворим в воде и спирте		В адсорбированном состоянии — зеленый	В цитологии и гистологии

Примечание. Исходное разведение флуорохромов 1:1000 на дистиллированной воде. В работе чаще используют 1:20 000, возможно дополнительное разведение 1:100 000 — 1:5 000 000.

Точное разведение необходимо подбирать экспериментально.

**IV. ПРОПИСИ ПРИМЕНЕНИЯ ФЛУОРОХРОМОВ
В МИКРОСКОПИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ *)**
(По Гайтингеру)

Выявляемые тканевые элементы	Флуорохромы	Концентрация	Длительность обработки в мин. ****)	Цвет флуоресценции
Клеточные ядра и протоплазма	Основные:			
	Акридиновый оранжевый **)	1 : 1000	0,5—1	Зеленый (цитоплазма)
	Корифосфин O ⁽⁺⁾	1 : 1000	0,5—1	Желтый (ядра)
	Аурофосфин	1 : 1000	0,5—1	Желтый
	Фосфин 3R	1 : 1000	0,5—1	»
	Трипафлавин	1 : 10 000	1	»
	Эйхризин 2GNX и 3R	1 : 1000	1—2	Желто-зеленый
	Реонин A ***)	1 : 1000	1	Золотисто-желтый
	Морин ***)	1 : 1000	2	Зеленый
	Нейтральный красный В экстра	в спирту 1 : 1000	5	Темно-красный
	Сульфат берберина ⁽⁺⁾	1 : 1000	0,05—0,1	Золотисто-желтый
	Кислые:			
Хелидоновый экстракт ⁽⁺⁾	—	1—2	То же	
Сангуинариевый *****) экстракт	—	1	Желтый	
Аминотерфталевая кислота *****)	Насыщенный спиртовой раствор	2—3	Синий	
Выступивший белок	Двойное флуорохромирование *****)			
	а) метил зеленый ⁽⁺⁾ б) тиофлавин S ⁽⁺⁾	1 : 10 000 1 : 1000	4—5 6—8	
Лейкоциты и лимфоциты	Основные:			
	Корифосфин O ⁽⁺⁾	1 : 1000		Оранжево-красный
	Тиофлавин S Эйхризин 2GNX	1 : 10000 1 : 1000	10	Темно-красный Оранжево-красный

*) Знаком⁽⁺⁾ отмечены флуорохромы, наиболее подходящие для данного тканевого элемента.

***) Дополнение авторов XVIII гл.

****) Предварительная обработка 10%-ным раствором сульфата алюминия.

*****) Указанные длительности обработки относятся к срезам в 10—20 мк и изменяются в зависимости от толщины препарата и его предварительной обработки.

*****) Неустойчив.

*****) Только для белковых кристаллов.

*****) Оба в буферных растворах с pH=6.

Продолжение

Выявляемые тканевые элементы	Флуорохромы	Концентрация	Длительность обработки в мин.	Цвет флуоресценции
Жир	Основные:			
	Нейтральный красный	1 : 1000	1	Золотисто-желтый
	Хлорофилл в спирту*)	—	2—4	
	Бриллиант-геранин	Насыщенный раствор	5	Огненно-красный
	Магдаловый красный	1 : 1000	1	Желтый
	Фосфин 3R	1 : 10 000	2	Зеленый
	Корифосфин O ⁽⁺⁺⁾	1 : 1000		Желто-зеленый
	Диамант-фосфин	1 : 1000	1	Желтоватый
	Примулин желтый	1 : 1000	2	Синий
	Тиофлавин S	1 : 10 000	10	Темно-красный
	Флавофосфин R	1 : 10 000	1	Синий
	Бриллиант-фосфин 9 экстра	1 : 10 000	5	»
	Хризаробин	—	—	Желтый
	Кислые:			
	Хелидониевый экстракт	—	2—4	Синий
Сангуинариевый экстракт	—	2	Желтый	
Экстракт ревеня	—	2	Золотисто-желтый	
Слизь	Основные:			
	Корифосфин O ⁽⁺⁺⁾	1 : 1000	1—2	Оранжево-красный
	Аурофосфин	1 : 1000	1—2	Зеленый до коричневого
	Реонин А	1 : 1000	3	Желтый до коричневатого
Трипафлавин	1 : 10 000	2	Зеленый	
Хрящ	Основные:			
	Корифосфин O ⁽⁺⁺⁾	1 : 1000	0,5—1	Красный
Тиофлавин S	1 : 1000	5	Синий	
Мозговые срезы	Основные:			
	Тиофлавин S ⁽⁺⁺⁾	1 : 10 000	10	Синий
	Бриллиант-дианил	1 : 1000	2—4	Беловато-синий
	зеленый G ⁽⁺⁺⁾			
	Корифосфин O	1 : 1000	10	Желтый
	Фосфин 3R	1 : 10 000	3	Синий
	Геранин O	Насыщенный на холоду	10	Розовый
Кислые:				
Экстракт ревеня**)	—	2	Коричневый	

*) Долго не сохраняется.

**) С последующей обработкой сульфатом алюминия.

Продолжение

Выявляемые тканевые элементы	Флуорохромы	Концентрация	Длительность обработки в мин.	Цвет флуоресценции
Коллагеновые волокна*)	Основные:			
	Тиазоловый желтый G ⁽⁺⁾	1 : 1000	0,5	Желтый
	Примулин	1 : 1000	2—3	Бледно-желтый
	Примулин желтый	1 : 1000	2—3	То же
Эластичные волокна*)	Основные:			
	Тиазоловый желтый G ⁽⁺⁾	1 : 1000	0,5	Желто-зеленый
	Примулин	1 : 1000	2—3	Беловатый
	Примулин желтый	1 : 1000	2—3	Синевато-белый
	Розоловый красный	1 : 1000	3	Красный
Поперечно-полосатые мышцы**)	Основные:			
	Аурофосфин	1 : 1000	0,5—1	Светло-зеленый
	Фосфин 3R	1 : 1000	0,5—1	Желтый
	Тиазоловый желтый G ⁽⁺⁾	1 : 10 000	10	Синий
	Розоловый красный	1 : 1000	3	Красный
Гладкие мышцы***)	Метод диазотирования			
	а) Примулин желтый	1 : 10 000	5	Золотисто-желтый
	б) Нитрит натрия + соляная кислота	—	10	—
	в) Резорцин в спирту	—	—	—
Клеточная стенка ****) Внутренний слой ****) Слой утолщения ****)	Розоловый красный ⁽⁺⁾	1 : 1000	2—3	Оранжево-желтый
	Тиазоловый желтый G	1 : 1000	1	Синеватый
Крахмал*****)	Флуоресцин	1 : 1000	10	Зеленый
	Эозин	1 : 1000	1—2	Красный
	2-р-ацетил-аминостирил-	1 : 1000	10	Желтый
	6-диаметил-аминохинолин-метасульфат			

*) Коллагеновые и эластичные волокна с большинством флуорохромов сохраняют собственную флуоресценцию или флуоресцируют цветом, промежуточным между цветами их собственной флуоресценции и флуоресценции флуорохрома.

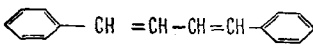
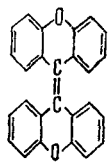
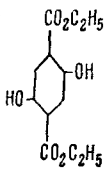
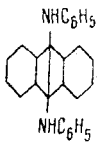
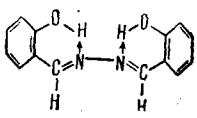
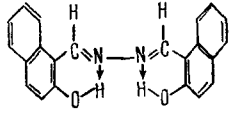
**) Помимо этих и почти все другие флуорохромы сообщают мышцам более или менее ярко выраженную флуоресценцию.

***) Соединительная ткань флуоресцирует синим светом.

****) Почти все флуорохромы вызывают яркое свечение клеточных стенок, в особенности в одеревяневших и опробковевших тканях.

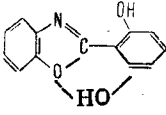
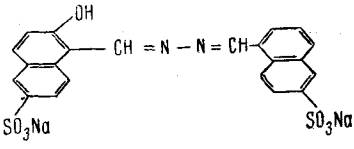
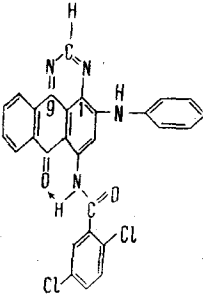
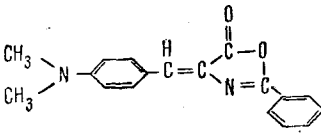
*****) Только в живых тканях.

V. ЛЮМОГЕНЫ (ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ ВЕЩЕСТВА, ОТЛИЧАЮЩИЕСЯ БОЛЬШОЙ ЯРКОСТЬЮ И УСТОЙЧИВОСТЬЮ)*

Наименование	Структурная формула
«Люмоген фиолетово-синий»(+)	
«Люмоген водно-голубой»(+) Диксантилен	
«Люмоген синий» Диэтиловый эфир диокситерефталевой кислоты	
«Люмоген желтый» Мезо-дианилидо-антрацен	
«Люмоген желтый»(+) 2,2'-диокси-1,1'-бензальдазин	
«Люмоген светло-желтый»(+) 2,2'-диокси-1,1'-нафталдазин	

*) Люмогены, отмеченные знаком (+), выпускаются отечественной промышленностью.

Продолжение

Наименование	Структурная формула
<p>«Люмоген светло-зеленый» (+) 2-(<i>o</i>-оксифенил-бензоксазол)</p>	
<p>«Люмоген светло-желтый водорастворимый» (+) Динатриевая соль 2,2'-диокси-6,6'-ди-сульфо-1,1'-нафталдазин</p>	
<p>«Люмоген красно-оранжевый» 2-анилидо-4-амино-2' 5'-дихлорбензоил-1 9-антрапиримидин</p>	
<p>«Люмоген оранжево-красный II» (+) 4-(4'-диметиламино-бензилиден)- 2-фенилоксазлон 5</p>	
<p>«Люмоген красный новый» (+)</p>	<p>Твердый раствор родамина В (№ 1 приложения VI) в порошкообразном поливинилхлориде.</p>

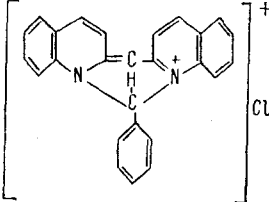
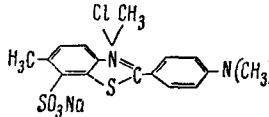
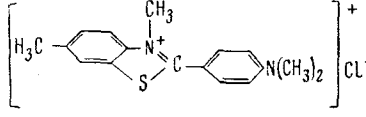
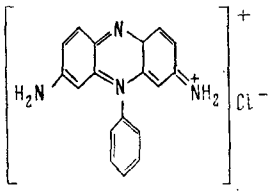
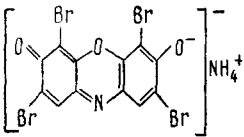
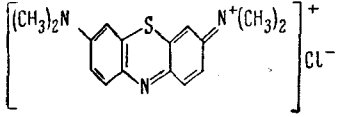
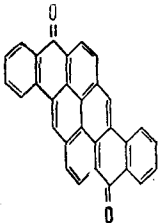
VI. ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЕ КРАСИТЕЛИ (табл. А) И УГЛЕВОДОРОДЫ (табл. Б), НЕ ЗНАЧАЩИЕСЯ В СПИСКАХ ФЛУОРОХРОМОВ (приложение III) И ЛЮМОГЕНОВ (приложение V).*)

Таблица А

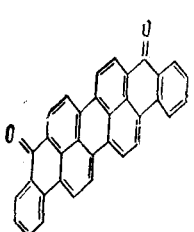
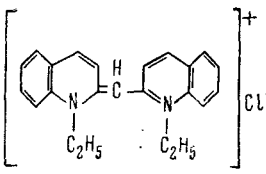
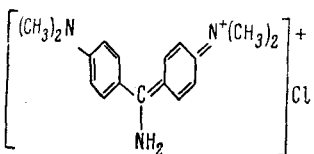
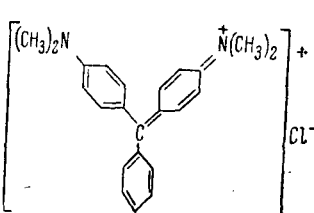
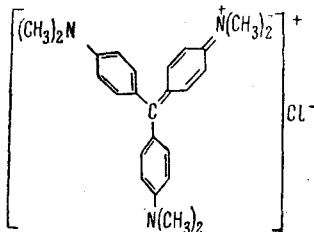
№ п/п	Вещество	Формула	Флуоресценция	
			Полоса (максимум) в мμ	Цвет
1	Родамин 3В			Оранжевый
2	Розовый бенгальский		540—670 (590)	Желтый
3	Аурофосфин			Зеленый
4	Флавофосфин			Зеленый
5	Реонин А			Зеленый

*) Таблица составлена по книге Принсгейма и Фогеля.

Продолжение

№ п/п	Вещество	Формула	Флуоресценция	
			Полоса (максимум) в мμ	Цвет
6	Азалин (хинолиновый красный)			Оранжево-красный
7	Акронал желтый S (тиофлавин S)			Зеленый
8	Родулин желтый (тиофлавин T)			Зеленый
9	Сафранин В экстра			Желто-зеленый
10	Флуоресцентный синий			Красный
11	Метиленовый синий		(670)	Красный
12	Пирантрон (индантрон золотисто-оранжевый)			Зеленый

Продолжение

№ п/п	Вещество	Формула	Флуоресценция	
			Полоса (максимум) в мик	Цвет
13	Виолантрон BS			Красный
14	Псевдо-изоцианин *)		Узкие полосы (572)	Желтый
15	Аурамин **)		490—590	Зеленый
16	Малахитовый зеленый **)		475—580	Зеленый
17	Кристалл-виолет **)		600—760 (670)	Красный

*) В водных растворах при больших концентрациях полимеризуется.
 * *) В твердых растворах и твердых адсорбатах.

Продолжение

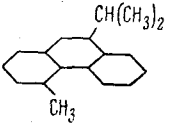
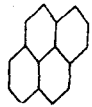
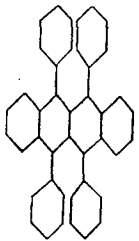
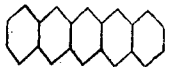
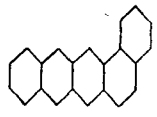
№ п/п	Вещество	Формула	Флуоресценция	
			Полоса (максимум) в мкм	Цвет
18	Фуксин*		555—665	Оранжевый
19	Прямой синий 2В**)		}	Цвет изменяется в зависи- мости от покра- шенного объекта
20	Дианил зеле- ный***)			
21	Геранин G***)			

*) В твердых растворах и твердых адсорбатах.

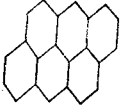
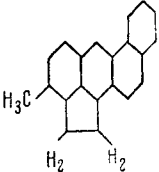
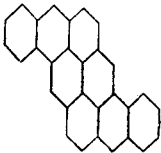
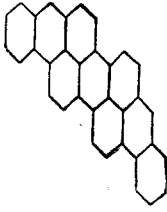
**) Только в адсорбированном состоянии на твердом адсорбенте.

***) Только на шерсти, шелке, хлопчатобушной ткани и искусственном шелке в высушенном состоянии.

Таблица Б

№ п/п	Вещество	Формула	Флуоресценция	
			Полоса (максимум) в мμ	Цвет
1	Ретен		3 полосы 340—370	
2	Пирен		5 узких полос 370—400	
3	Рубрен		530—650 (590)	Желтый
4	Пентацен			Красный
5	Дибензантрацен			Желто-зеленый

Продолжение

№ п/п	Вещество	Формула	Флуоресценция	
			Полоса (максимум) в м.мк	Цвет
6	Антрацен			Синий
7	Метилхолоантцен		400—520	Зеленовато-синий
8	Пирантцен			Зеленый
9	Виолаантцен			Зеленый

VII. ВВЕДЕНИЕ В НАЧАЛЬНЫЙ ПРАКТИКУМ

Настоящее введение в практикум рассчитано на тех, кто впервые приступает к люминесцентному анализу и, естественно, сталкивается с трудностями при организации и проведении работы. Опыт показал, что прохождение небольшого практикума значительно облегчает первые шаги начинающего и предупреждает некоторые неизбежные ошибки.

Задание 1

Ознакомление с фотолюминесценцией различных объектов, с условиями ее наблюдения*)

Чтобы познакомиться с явлением фотолюминесценции, просмотрите в рабочем пространстве вашей установки свечение различных объектов, возникающее при освещении их ультрафиолетовым светом. Большое число таких флуоресцирующих объектов указано во введении. Ознакомьтесь с флуоресцентными свойствами воды — водопроводной и дистиллированной, спирта, эфира, различных химикалий, например, растворов кислот, оснований и солей, твердых неорганических и органических соединений, бензола, толуола; посмотрите флуоресценцию растворов красителей, например флуоресцеина в щелочном растворе, родамина, эозина; флуоресцирует ли бумага, стекло, фарфоровые чашечки, ногти и т. д.

Отметьте, в каких из разнообразных случаев флуоресценцию можно связывать с определенным химическим компонентом (сравните данные главы IV). Сравните свечение различных сортов стекла: пробирок, трубок, палочек. Убедитесь, что некоторые сорта стекла светятся довольно ярко, поэтому при наблюдении флуоресценции растворов надо подбирать пробирки, не обладающие способностью флуоресцировать. Обратите внимание на красные блики на стенках пробирки; они исчезают при изменении положения головы, так как представляют не флуоресцентное излучение, а отраженный видимый свет ртутной лампы, не полностью поглощенный светофильтром.

Посмотрите, как изменяется флуоресценция при изменении условий наблюдения: при освещении сверху, сбоку, через линзу, при приближении и удалении от лампы (от светофильтра), при помещении над объектом стеклянной пластинки. Сравните флуоресценцию объектов при их освещении только невидимыми ультрафиолетовыми лучами и в том случае, когда на них попадает видимый свет. Как объяснить кажущееся изменение цвета свечения?

Задание 2

Наблюдение изменения флуоресценции в зависимости от концентрации

Приготовьте около 5 мл 1%-ного раствора флуоресцеина (растворяйте флуоресцеин в приблизительно 5%-ной щелочи).

Приготовьте из этого раствора ряд растворов с концентрациями, отличающимися между собой на порядок, т. е. в 10 раз: 1%, 0,1%, 0,01%... до 10^{-11} г/мл (приблизительно). Все растворы готовьте на 5%-ной щелочи.

Сравните флуоресценцию полученных растворов. Одинаково ли изменяется интенсивность свечения при разбавлении концентрированных и разбавленных растворов? Изменяется ли цвет флуоресценции при изменении концентрации раствора? Изменяется ли цвет флуоресценции при разбавлении растворов малой концентрации?

Какова минимальная концентрация раствора, при которой еще заметна его флуоресценция?

Испытайте, одинаково ли себя ведут другие флуоресцирующие вещества, например хинин, родамин, эозин и т. д.

Приведите в связь ваши наблюдения с теми теоретическими данными, какие сообщаются в главе II.

Задание 3

Ознакомление со свойствами флуоресцентных индикаторов

Применяемые реактивы: 4-этоксинакридон; 2-нафтиламин; акридин; 4-метилумбеллиферон; Р-соль; СС-кислота (в растворах концентрации 0,1%); соляная кислота — 5%-ный раствор; едкий натр — 5%-ный раствор.

*) Указания, как собрать простейшую установку, даны в гл. VII, стр. 116.

В одну пробирку налейте 2—3 мл соляной кислоты, в другую—такой же объем раствора едкого натра. Добавьте в каждую из пробирок по 1—2 капли раствора индикатора 4-этоксинакридона. Перемешайте содержимое каждой пробирки. Сравните флуоресценцию полученных растворов 4-этоксинакридона в кислой и щелочной среде, наблюдая ее в фильтрованном ультрафиолетовом свете.

Проделайте тот же опыт с каждым из имеющихся индикаторов. Сравните полученные результаты с данными главы VIII.

Задание 4

Титрование окрашенного раствора в присутствии флуоресцентного индикатора

Применяемые реактивы: 4-метилумбеллиферон (0,1%-ный раствор в спирте); соляная кислота (0,1н раствор); едкий натр (0,1н раствор); метиловый фиолетовый (0,1%-ный раствор); фенолфталеин (1%-ный раствор в спирте).

Налейте в коническую колбу пипеткой 25 мл соляной кислоты, добавьте 2—3 капли 4-метилумбеллиферона и подкрасьте раствор 2 каплями метилового фиолетового. Титруйте раствор в фильтрованном ультрафиолетовом свете раствором едкого натра. За конец титрования принимайте устойчивую сине-фиолетовую флуоресценцию, не исчезающую при перемешивании.

Отметьте количество щелочи, пошедшее на титрование.

Проведите параллельное титрование 25 мл той же кислоты такой же щелочью в обычных условиях в присутствии индикатора фенолфталеина. Сравните результаты титрования в обоих случаях.

Задание 5

Титрование окрашенной жидкости в присутствии хемилюминесцентного индикатора

Применяемые реактивы: Люцигенин (0,1%-ный раствор в воде); соляная кислота (0,1н раствор); едкий натр (0,1н раствор); перекись водорода (5%-ный раствор); прямой коричневый К (0,1%-ный раствор); фенолфталеин (1%-ный раствор в спирте).

Налейте в коническую колбу пипеткой 25 мл соляной кислоты, добавьте 4 капли люцигенина, 4 капли перекиси водорода и подкрасьте раствор «прямым коричневым К». Титруйте в темноте (в темной комнате) раствором едкого натра до появления свечения всего раствора, не исчезающего при перемешивании.

Отметьте количество щелочи, пошедшее на титрование.

Проведите параллельное титрование 25 мл той же кислоты, такой же щелочью в обычных условиях в присутствии индикатора фенолфталеина.

Сравните результаты титрования с полученными ранее и с данными гл. IX.

Задание 6

Определение чувствительности люминесцентной реакции алюминия с салицилаль-о-аминофенолом*)

Применяемая аппаратура, реактивы и растворы

1. Ртутно-кварцевая лампа или иной источник ультрафиолетового света, снабженный светофильтром УФСЗ, УФС2 или УФС1.

2. 0,01%-ный раствор салицилаль-о-аминофенола в ацетоне.

3. Вода бидистиллят, перегнанная в стеклянной аппаратуре.

4. Фталатный буфер с рН = 5,8—6,0. Его готовят следующим способом: в мерную литровую колбу всыпают 40,836 г предварительно перекристаллизованного и высушенного при температуре 110—115° С в течение 1,5—2,0 часов кислого фталевокислого калия и добавляют приблизительно 700—800 мл дистиллированной воды. После растворения и перемешивания доливают водой до метки, снова перемешивают, отбирают пипеткой в стакан 50 мл этого раствора и нейтрализуют по фенолфталеину приблизительно 1/5 молярным раствором едкого натра. К полученному раствору добавляют

*) Вспомните указания относительно количественного люминесцентного анализа, приведенные в гл. V и VI.

6,2 мл исходного раствора кислого фталевокислого калия и полученный раствор доводят приблизительно до 200 мл.

5. Типовой раствор алюминия (раствор I), содержащий 1,0 мг алюминия в 1 мл, готовят следующим образом: в мерной литровой колбе растворяют 1,000 г металлического алюминия (проволока или тонкая пластинка) в 8 мл соляной кислоты «хч» (уд. веса 1,12) и доводят водой объем раствора до литра.

В день его применения 0,1 мл раствора I разбавляют в мерной колбе дистиллированной водой до 10 мл и 0,1 мл полученного раствора вторично разбавляют до 10 мл. Получают типовой раствор с содержанием алюминия 0,1 γ в 1 мл (раствор II).

Выполнение задания

Налейте в пять конических колбочек (объемом 50 мл каждая) по 7 мл дистиллированной воды и в четыре из них внесите типовой раствор II в количествах 0,25, 0,5, 1,0 и 2,0 мл (что соответствует 0,025, 0,05, 0,1 и 0,2 γ алюминия). Прибавьте в каждую колбочку по 1 мл буферного раствора и доведите объем каждой колбочки до 10 мл (для этого добавьте 2,0, 1,75, 1,5, 1,0 и 0,0 мл воды), перемешайте растворы и прибавьте в каждый по 0,3 мл раствора салицилаль-о-аминофенола. Через 30—45 мин. наблюдайте в ультрафиолетовом свете люминесцентное свечение приготовленных образцов.

Сравните интенсивности флуоресценции растворов в каждой колбочке с интенсивностью флуоресценции контрольного образца без внесенного алюминия; найдите ту из них, в которой еще видна разница в интенсивности флуоресценции. Количество алюминия в этой найденной колбочке, выраженное в γ/5 мл раствора, характеризует чувствительность реакции.

Сравните полученный результат с литературными данными, приведенными на стр. 172. Объясните причину заниженной чувствительности реакции по сравнению с указанными данными.

Задание 7

Количественное определение алюминия в уксуснокислом натрии

Применяемая аппаратура, реактивы и растворы

1. Прибор для количественных измерений интенсивности флуоресценции (фото- или фотоэлектрический фотометр или монохроматор с фотоумножителем).
2. Азотная кислота концентрированная, квалификации «хч», перегнанная в кварцевом приборе и хранящаяся в кварце*).
3. 0,05н водный раствор трилона «Б» (динатриевая соль этилен-диамин-тетрауксусная кислота).
4. Ализарин, 0,1%-ный спиртовой раствор (1,2-диоксиантрахинон).

Остальные реактивы те же, что и в задании 6.

Выполнение задания

В мерной колбочке объемом 100 мл растворите 3 г уксусно-кислого натрия «ЧДА» в дважды перегнанной воде и полученный раствор долейте до метки. Необходимое значение pH анализируемого раствора (pH = 5,6 — 6,0) достигают путем добавления в него нескольких капель азотной кислоты. Для этого отберите 10 мл раствора и в присутствии индикатора ализарина добавляйте к нему по каплям азотной кислоты, разбавленной предварительно дистиллированной водой в отношении 1 : 8**) (т. е. в девять раз), до перехода красной окраски раствора в желтую.

В оставшийся раствор уксуснокислого натрия (90 мл) добавьте такое же число капель, но уже концентрированной азотной кислоты, и тщательно перемешайте.

В четыре колбочки объемом по 50 мл налейте по 10 мл полученного раствора уксуснокислого натрия и затем в одну из них добавьте 2 капли раствора трилона «Б» и в две другие 0,5 мл и 0,8 мл типового раствора II с концентрацией алюминия 0,1 γ в 1 мл (см. задание 6). Объем всех четырех колбочек доведите до 11 мл, приливая в две из них по 1 мл и в две другие 0,5 и 0,2 мл дистиллированной воды.

*) При хранении азотной кислоты в стекле происходит ее загрязнение алюминием.

**) Указанное разбавление принято потому, что оставшийся объем анализируемого раствора в девять раз больше отобранного.

Во все четыре колбочки прилейте по 0,3 мл раствора салицилаль-*o*-аминофенола, перемешайте и после 30—45 мин. измерьте интенсивность флуоресценции каждого из четырех растворов.

Процентное содержание алюминия в уксуснокислом натрии рассчитайте по формуле

$$\% \text{ содержание Al в уксуснокислом натрии} = \frac{\Delta C_{\text{Al}} (I_x - I_B)}{M (I_{\text{Al}} - I_x) \cdot 1000},$$

где M — навеска уксуснокислого натрия в граммах; I_x — интенсивность флуоресценции анализируемого образца; I_{Al} — интенсивность флуоресценции раствора с добавленным алюминием; I_B — отсчет, соответствующий раствору с трилоном «Б», не имеющему флуоресценции (этим учитывается реакция приемника излучения на рассеянный свет); ΔC_{Al} — количество добавленного алюминия в $\gamma/10$ мл.

Процентное содержание алюминия в уксуснокислом натрии рассчитайте, исходя из найденных интенсивностей свечения (I_x) растворов, к которым было добавлено алюминия в первый — 0,05 γ и второй — 0,08 γ . Возьмите среднее значение.

Повторите определение с оставшимся раствором уксуснокислого натрия и найдите относительную ошибку определения.

Выведите формулу, по которой проводится вычисление процентного содержания алюминия в уксуснокислом натрии.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

- Адаптация 90
Адреналин 347
—, окисление 208
—, определение на бумаге 210
—, — по Розенталю 209
—, порча 303
Адсорбенты люминесцирующие 63, 74
Акридин 304, 326
—, изменение спектра 38, 39, 49
—, спектры излучения, поглощения 68
Акридиновый оранжевый 294, 318, 320, 327
Алмазы, люминесценция 289, 290
Альбумин сывороточный 340
Алюминий, определение 171—173
Анализ капиллярный 62, 282, 284
— хроматографический 62, 199, 283
— — бесцветных веществ 63
— — вытяжки из растений 62
— — на твердых колонках 74
Аневрин — см. витамин B₁
Антибиотики 201, 202
Аспирин, гидролиз 303
Ассоциация молекул 49
Ауксофлорные 52
- Барий, определение 168
Батофлорные 52
Бериллий, определение 167, 168
Битуминозность пород 280, 283, 284
Битумы 281, 283, 284, 341
Бор, определение 170, 171
Бром, определение 157, 180
Бумажная хроматография 63, 181, 209, 293
— —, выявление «пятен» 64
- Вирусы 225, 318
Витамин А 206, 312
— — в глазу 207
— B₁ 204
— B₂ 65, 202—205, 236, 312
Водоросли 240
Воды пластовые 284
Возбуждение атомов 99
— молекул 41, 52
Волокна анизотропные 342
— мезотропные нервные 343
Всхожесть 232—235
Выход квантовый 29, 79, 80
— энергетический 29, 79, 80, 145
Вязкость «ложная» 341
- Галлий, определение 173
Гафний, определение 157
Гематопорфирин 328, 367
- Генератор высокочастотный 104
Германий, определение 176
Гидразид 3-аминофталево-й кислоты 65, 138, 328
Гипсофлорные 52
Глубина трещин 249, 250
Грибы *Eremothecium ashbyii* 236, 237
— плесневые 227
— сапрофитные и паразитные 235, 236
- Дефектоль зелено-золотистый 241
Дефектоскопия огнеупорных изделий 250, 251
Диагностика опухолей 294, 296
Диаграмма состояния 155
Дигидроакридина спектры поглощения и флуоресценции 68
1-диметил-аминонафталин-5-сульфонил-хлорид 339
- Заболевания вирусные 224—226
Зажигание ртутных ламп 104
Золото, определение 167
Зрачок глаза 89
- Жизнеспособность семян 231—235
- Иммуно-цитохимия люминесцентная 317
Индий, определение 175
Индикаторы флуоресцентные 125
— — адсорбционные 128, 132
— — для зеленых сред 127
— — — красных сред 127
— — окислительно-восстановительные 131
— — хемилюминесцентные 141
- Кадмий, определение 169
Кальций, определение 168
Катодолюминесценция 149
—, механизм возбуждения 150
—, прибор промышленный 107
—, спектры 154
—, ячейка Комовского 107
Квант излучения видимого 21
— — рентгеновского 156
Кислород, определение 178
Кислоты нафтоновые 284
— нуклеиновые 315, 320, 340
Клейковина 229
Клин оптический 108
Клоп-черепашка 229, 230
Кожные рубцы 325
Кокса трещиноватость 286

- Контроль вулканизации 262
 — отливок 76
 — папирос 275
 Коэффициент отражения 92
 — пропускания 92
 Кристаллические решетки 343
 Кровь 321, 328
 Ксенилстеарат кальция 338

 Лампы бактерицидные 101
 — ДРШ 311
 — кинопроекторные 311
 — криптоновые, ксеноновые 106
 Лизоцим 340
 Литий, определение 165
 Лофин 142
 Люминесцентная микроскопия 75
 — — в судебной медицине 326
 — — в текстильной промышленности 272
 — — в формации 304, 305
 — — науконосцов 263
 Люминесценция инфракрасная 91, 330, 331
 — коконов 236
 — лейкоцитов 321
 — металлоидов 164
 — различных видов 22
 — рентгеновская 157
 — ультрафиолетовая 87
 — «чистых солей» 164
 — ядовитых алкалоидов 329
 Люминол 138, 141, 142
 Люминоскоп солнечный 224
 Люмоген голубой 245
 Люцигенин 141, 142

 Магний, определение 168
 Магнитные чернила 245
 Масла нефтяные 264
 Медь, определение 166
 Межмолекулярное взаимодействие 44
 Метастабильные уровни 52, 56
 Метод Сервиня 160, 161
 Мечение люминесцентное 338, 339
 — — антител 317, 319, 320
 Миграция песков 74
 — энергии 333
 Микроагглютинация люминесцентная 319
 Микроскопия ультрафиолетовая 76
 Микроскопы люминесцентные 311
 Микроспория 295
 Митогенетические лучи 143
 Монохроматор 114
 Мука 227—229
 Мышьяк, определение 177

 Направление наблюдений 80—82, 88
 Ниобий, определение 157, 163
 N'-метилникотинамид 206

 Обнаружение загрязнений 304
 — «нервных» газов 210
 — оружейной смазки 327
 — волос 326
 — трещин сквозных 241

 Обнаружение трещин волосных 241
 — хирина, акрихина 329
 — цианистого водорода 210
 Оболочки сольватные 341
 Объем молекул 338, 339
 Овощи 223, 224
 Озон, определение 178, 179
 Олово, определение 176
 Опак-иллюминатор 309, 311
 Определение ацетиленов 212
 — бензила 213
 — берилла 288
 — вольфрамитов 288
 — гюбнерита 288
 — 2-нитронафталина 213
 — поллуцита 288, 289
 — эстрогенных веществ 200—201
 Оптическая плотность 19
 Опухоль 322
 Органы внутренние 326
 Осветители 311—312
 Освещенность 84
 Ослабители ступенчатые 87
 Отношение α/β 148
 Оценка интенсивностей, сравнение глазом 70
 — — по порогу зрения 71, 90, 178, 209

 Паранитродиметиламиностильбен 45
 Передвижение воды в растениях 237
 Перлы буры 162
 — фосфорной кислоты 162
 — фторида натрия 163
 Печать вытравная 273
 Пленка анизотропная 342
 Плоскость колебания 19
 Поглощение полное 82
 Подкрашивание воды 73
 — масла 73
 Показатель поглощения 18, 81, 92
 Поливинилтолуол 148
 Полиены 46
 Полиморфные превращения 154
 Полистирол 148, 338
 Поляризация люминесценции 333
 — — предельная 337
 Поляриметр Корню 335
 Полярископ Савара 336
 Поляроиды 335
 Порфирины, идентификация по Финку 207
 —, определение 299
 —, — в опухолях 294
 —, спектры 367
 Почва 238
 Приемники излучения 83
 Призмы Николи, Волластона 335
 Припудривание 244, 248
 Проверка трубок конденсатора 251
 Продукты пищевые 227
 Пролан 305
 Проницаемость среды 73
 Протеины 339
 Птицеводство 237
 Пыльная головня 235

- Радиобиология 321
 Радиолюминесценция 145
 Разряд дуговой 99
 — глеющий 99
 Разряда режим 100
 Распыление ядохимикалий 240
 Реабсорбция света 82
 Реактивы флуоресцентные 186—197
 Реакции групповые 212, 214
 — на алкалоиды 212
 — — кислоты 211, 214
 — — спирты 211, 214
 — — фенолы 214
 — — эфиры 211
 Регистрация излучений 146
 Редкоземельные элементы, определение 158—162, 176
 Режим горения 105
 Резонансная линия ртути 100
 Рибофлавин — см. *витамин В₂*
 Риванол 304
 Рубин синтетический, спектр 71
 — —, концентрация хрома 71, 273, 274

 Световая сумма 76
 Светофильтров выбор 92—96
 — кривые пропускания 93—96
 Светофильтры 16, 18
 — «глутренные» 31
 — жидкостные 91, 96
 — интерференционные 96
 — «скрещенные» 88, 94, 310
 — стеклянные 91—94
 Свинец, определение 157, 177
 Селективные приемники 83
 Сенсibilизация 155
 Сера, определение 177
 Серебро, определение 167
 Силоксен 141
 «Сместители» спектра 148
 Спектрографа оптическая схема 113
 Спектроскоп 114
 Спектры линейчатые 100, 106
 — сплошные 100, 105, 106
 Спермы пятна 327
 Схемы включения ламп бактерицидных 102
 — — — ДРШ 104
 — — — ПРК 104
 — — — УФО-4А 103
 — — фотоэлектронного умножителя 112
 — — фотоэлемента 110

 Тантал, определение 157
 Тебаин 65
 Температура цветовая 96—97
 Терпены, определение 64
 Теческатель искровой 104
 Тиамин — см. *витамин В₁*
 Титрование хинина 70
 Триптофан 209

 Углеводороды канцерогенные 198—199
 Углеводороды, влияние растворителя 42
 —, идентификация по спектрам 61
 —, раздельное хроматографирование 63, 263

 Углей метаморфизм 285
 Удобрения 238
 Ультразвук 76
 Уран, определение 157, 163

 Фаголизис 319, 320
 Фиксация объектов 313
 Флуоресциновая проба 293
 Флуоресцентные реакции в фармации 305, 306
 Флуоресценция алкалоида 304
 — ингредиентов резины 255, 259
 — окиси цинка 255
 — проростков 231
 — резиновых смесей 256, 259, 260
 — семян 230, 231
 Флуороль зелено-золотистый 247
 Флуорохромирование бумажной пульпы 273
 — волос 327
 — гистологических срезов 326
 — суправитальное 321
 Флуорохромы 73, 225, 226, 233, 235, 237, 238, 272, 309, 312, 327, 372
 Фолликулин 65, 200, 297, 303
 Формула Манжена 84, 85
 Фосфоресценция 22, 56, 62, 275, 330
 Фотографирование 85, 249, 314
 Фотометры 108
 — Аленцева 89, 117
 — МФ 89, 108
 — фотоэлектрические 109
 Фотопластинки сенсibilизированные 83
 Фотоэлементы 84, 109—111
 — селеновые 109
 —, спектральные характеристики 110
 — сурьяно-цезиевые 111
 Фотоэффект внешний 111
 Фрукты 223
 Фтор, определение 180
 ФЭУ-27 114

 Характеристики фотоумножителей 112
 Химотрипсин 340
 Химотрипсиноген 340
 Хлорофилл 345—347
 Хроматографирование алкалоидов 304—305
 — нефтей 283

 Цвета видимого света 16
 — пропускания 17
 Цветовая трансформация 76
 Цинк, определение 168, 169
 Цирконий, определение 157, 176

 Шеелит 288
 Шелк искусственный 342
 «Шум» темновой 84

 Электронно-колебательные уровни 52, 55
 Электронно-лучевая трубка 106
 — — — разборная 151, 152
 Электроны вторичные 145, 150, 156

 Яркость 84

Люминесцентный анализ.

Редактор *Э. Л. Моргентерн*.

Техн. редакторы *С. Н. Ахламов*
и *Н. Я. Мурашова*.

Корректор *Л. О. Сечейко*.

Слано в набор 5/VII 1961 г. Подписано
к печати 16/XI 1961 г. Бумага 70×108¹/₁₆.
Физ. печ. л. 25+1 вкл. Условн. печ. л.
34,41. Уч.-изд. л. 32,87. Тираж 11000 экз.
Т-12329. Цена книги 1 р. 80 к.
Заказ № 1155.

Государственное издательство
физико-математической литературы.
Москва, В-71, Ленинский проспект, 15.

Московская типография № 5-
Мостгорсовнархоза.
Москва, Трехпрудный пер., д. 9.