

## ИССЛЕДОВАНИЕ СТРУКТУРЫ ВОДЫ С ПОМОЩЬЮ ЛАЗЕРНОГО КОНФОКАЛЬНОГО СКАНИРУЮЩЕГО МИКРОСКОПА

*Е. А. Ефимова, Ю. С. Ковалев, С. И. Тютюнников*

Объединенный институт ядерных исследований, Дубна

Для расширения диапазона использования лазерного конфокального сканирующего микроскопа (ЛКСМ), в частности для исследования жидких сред, проведены измерения на воде как на наиболее доступном и жизненно важном элементе. В работе представлены измерения спектров воды комбинационного рассеяния света (КРС), полученные на различных образцах воды — необработанной, очищенной и минеральной, в разных фазовых состояниях, а также прошедшей различные методы фильтрации и обработки.

To prepare the laser confocal scanning microscope (LCSM) for investigation of liquid states, the measurements of water were presented as it's the most available and lively important element. The measurements of Raman spectra of the water samples are presented. They were the samples of untreated water, purified and mineral water, water in different phase states, and also water pretreated by different methods of filtration and processing.

PACS: 61.20.Ne, 87.64.Je, 87.64.Tt

Структура воды и ее физические свойства давно привлекают внимание ученых [1, 2]. В настоящее время актуальными являются разработка и внедрение новых методов исследования воды, примесей в ней, а также и методов ее фильтрации [3]. Для исследований структуры и состава воды используется большое количество разных методов [3, 4]. Метод, основанный на атомно-эмиссионном анализе примесей, является в настоящий момент одним из самых чувствительных и точных для проведения оперативного анализа [5]. Однако он требует проведения дополнительных калибровок по примесям, кроме того, он не позволяет обнаружить органические примеси. Перспективным может стать метод, основанный на возбуждении в воде лазерным пучком вторичного излучения, которое состоит из дискретных линий комбинационного рассеяния и флуоресценции органической субстанции, если она присутствует.

ЛКСМ уже использовался нами для исследования рамановских спектров твердых тел, в частности проведены исследования керамики ЦТСЛ [6]. Было решено проверить его эффективность для исследований рамановских спектров жидких сред. Была выбрана вода как наиболее доступная проба и в то же время наиболее интересный и важный для жизни объект.

Исследования воды методом комбинационного рассеяния света (рамановские спектры) проводились также и другими авторами [7, 8].

Цель данной работы: расширить границы применения лазерного конфокального сканирующего микроскопа и провести адаптацию микроскопа для исследования структуры  $H_2O$  и примесей в ней.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры комбинационного рассеяния объектов получены на лазерном конфокальном сканирующем микроскопе со спектральным разрешением  $\Delta\nu = 4 \text{ см}^{-1}$  с использованием излучения He–Cd-лазера ( $\lambda = 441,6 \text{ нм}$ , мощность излучения  $P = 100 \text{ мВт}$  и диаметр луча лазера на мишени  $0,8 \text{ мкм}$ ).

Измерение спектров флуоресценции и КРС проводилось в геометрии  $180^\circ$ , т.е. регистрировалось излучение под углом  $180^\circ$  по отношению к падающему. Спектральный интервал регистрации вторичного излучения составлял от  $445,0$  до  $900,0 \text{ нм}$ . Разрешение при измерении спектров КРС составляет  $\sim 4 \text{ см}^{-1}$ . Постановка эксперимента осуществлялась следующим образом: для исследования воды использовалась кварцевая кювета. Кварцевая кювета с водой помещалась на предметный столик микроскопа, в нее фокусировался луч лазера. Тем же объективом собирался рассеянный свет.

В качестве тестового объекта чистой воды использовалась вода, полученная в результате двойной перегонки, — бидистиллят. Она имеет высокую степень очистки от органических и неорганических примесей. Спектрально-эмиссионные исследования показали ее высокую степень чистоты.

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

В спектре комбинационного рассеяния чистой воды имеются следующие наиболее ярко выраженные частоты колебаний: частота симметричных колебаний сжатия-растяжения молекулы  $\text{H}_2\text{O}$  ( $600\text{--}6000 \text{ см}^{-1}$ ), изгибных (поворотных) колебаний ( $100\text{--}10 \text{ см}^{-1}$ ) и асимметричных колебаний сжатия-растяжения (по водородным связям).

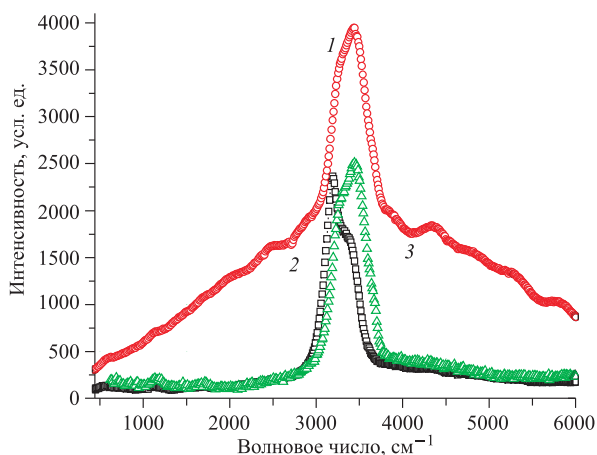


Рис. 1. Спектры КРС воды: 1 — водопроводной воды при комнатной температуре; 2 — замороженной водопроводной воды (льда) при температуре  $-5^\circ\text{C}$ ; 3 — бидистиллята

На рис. 1 измеренный спектр комбинационного рассеяния нескольких образцов воды: бидистиллята, водопроводной воды, воды в замёрзшем состоянии при  $-5^\circ\text{C}$ . В спектре КРС бидистиллята разложением его на гауссовские пики выделяются две частоты  $\nu_1$  и  $\nu_3$ ,

совпадающие с частотами КРС воды, полученными другими авторами [7–9]. В состоянии льда происходит сдвигка этих линий в сторону меньших частот, это представлено в таблице.

**Результаты фитирования (подгонки) колебательных мод  $\nu_1$  и  $\nu_3$  воды суммой двух гауссианов**

Частота	Положение пика, $\text{см}^{-1}$	Высота пика $I_{\text{max}}$	Полуширина на $0,5I_{\text{max}}$ , $\text{см}^{-1}$
Замороженная вода			
$\nu_1$	3180	1730	169
$\nu_3$	3393	1219	200
Химически очищенная вода (бидистиллят)			
$\nu_1$	3236	840	180
$\nu_3$	3453	2034	280

Интересной особенностью в спектре КРС водопроводной воды является наличие большой полосы люминесценции. Сравнение с литературными данными дает нам доказательство, что широкая полоса люминесценции — это биологический субстрат в воде [10]. Обнаружение в водопроводной воде биологически растворимого субстрата привело к необходимости поиска методов очистки воды от этой примеси. Замораживание воды можно отнести к эффективным способам очистки обычной водопроводной воды.

Были произведены измерения спектра КР речной воды, представленные на рис. 2.

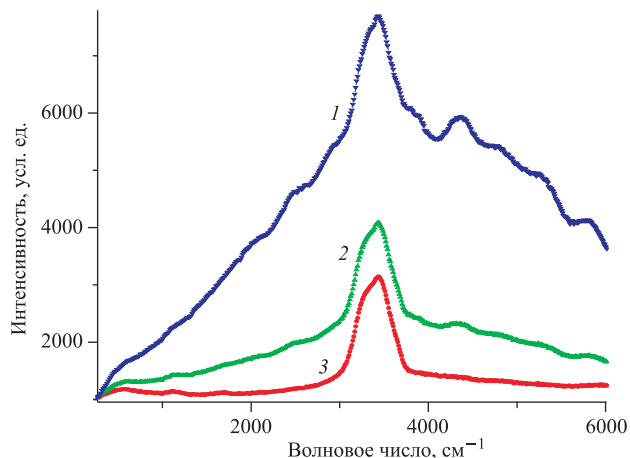


Рис. 2. Спектры КР воды: 1 — воды из Волги в районе г. Дубны; 2 — из водопровода г. Дубны; 3 — бидистиллята

Из сравнения спектров водопроводной воды и воды из Волги видно, что широкая люминесцентная полоса присутствует везде, у речной воды она значительно выше, чем у водопроводной. На рис. 3 представлены результаты влияния кипячения на спектры КРС воды. Как показывают результаты измерений кипяченой воды, ее спектр КРС такой же, как и некипяченой, т. е. при кипячении не происходит разрушение биологического суб-

страта. Из рис. 3 видно, что кипячение существенно не влияет на спектр (структуру и состав) воды (если кипятили водопроводную воду), а также не меняет концентрацию солей в ее химическом составе.

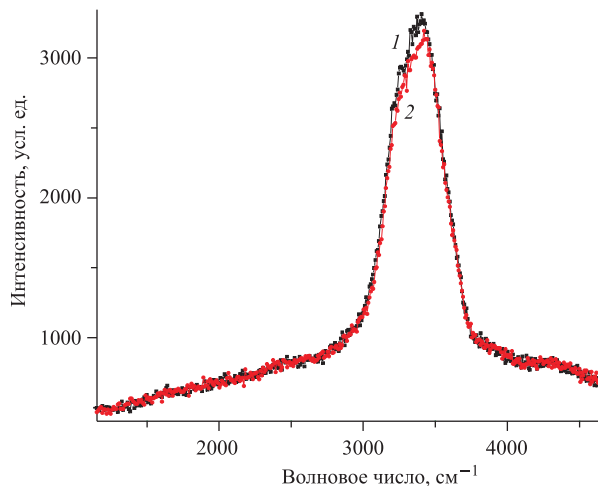


Рис. 3. Спектры КРС водопроводной воды: 1 — некипяченой и 2 — кипевшей при температуре 100 °С в течение 3 мин

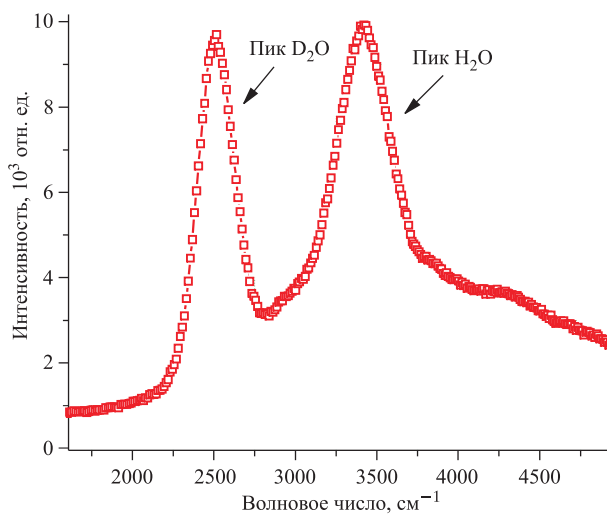


Рис. 4. Спектр КРС смеси H₂O и D₂O в равных пропорциях по массе

Большой интерес представляют эксперименты по определению концентрации D₂O в воде (так называемой тяжелой воды). Содержание дейтерия в природной воде Московского региона — 140–150 ppm. При уменьшении этой концентрации (60–100 ppm) вода предположительно становится легкой (легкая вода — это вода с пониженным по сравнению с природным уровнем содержанием природной тяжелой воды (оксида дейтерия))

и приобретает радиопротекторные, иммуномодулирующие свойства [11], т. е. становится лечебной и обладает омолаживающим эффектом. В связи с этим представляет, несомненно, интерес обнаружение порога  $D_2O$  по линии комбинационного рассеяния света с частотой  $\nu = 2500 \text{ см}^{-1}$ . На рис. 4 представлен спектр смеси  $H_2O$  и  $D_2O$  в равных концентрациях. Из рисунка видно, что линия комбинационного рассеяния  $D_2O$  более узкая, чем у обычной воды, и влияние тяжелой воды приводит к сдвигу линии  $\nu_3 = 3453 \text{ см}^{-1}$  на  $50\text{--}70 \text{ см}^{-1}$ .

Следует отметить, что частоты пиков спектров растворов согласуются с литературными данными [7]. Измерения тоже проводились с помощью рамановской спектроскопии.

С целью определения порога регистрации  $D_2O$  были проведены измерения спектров КР воды с добавлением тяжелой воды в единицах ppm, результаты представлены на рис. 5.

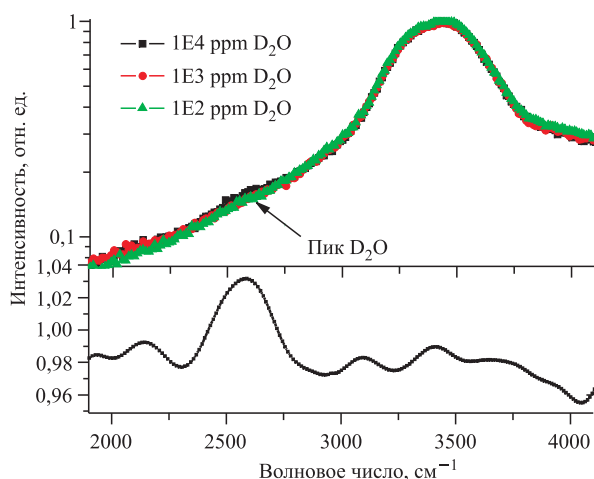


Рис. 5. Спектры КР бидистиллята с различным содержанием  $D_2O$  в единицах ppm

Видно, что обнаружительная способность метода КРС составляет несколько единиц  $10^3$  ppm. Из спектров видно, что ощутимо наблюдаемый на установке пик  $D_2O$  в воде возникает при концентрации  $\sim 10^4$  ppm, и даже в этом случае для отчетливого выделения пика спектр воды с  $10^4$  ppm  $D_2O$  отнормирован на спектр бидистиллята (кривая внизу графика).

Представляли интерес спектры воды с добавлением растворимых веществ. Было обнаружено, что спектр КРС воды более чувствителен к растворению в нем органических веществ. Так при растворении в воде сахара в количестве  $> 12 \text{ мг/мл}$ , т. е.  $1,2 \text{ вес. \%}$ , в спектрах появляется точка перегиба, которая находится на месте линии КР, принадлежащей колебанию сахара, при увеличении концентрации до порога насыщения происходит полное разрушение структуры воды, появляются линии сахара (рис. 6).

Из спектров видно, что добавление сахара увеличивает фон (люминесценцию) и смещает пики колебаний в низкочастотную область, при предельно допустимом количестве сахара при  $T = 20^\circ\text{C}$  наблюдается появление дополнительных низкочастотных пиков и спектр, вообще говоря, имеет вид, отличный от спектра воды.

Следует отметить, что добавление в воду щелочей и солей в значительно больших концентрациях так не влияет на спектр (при концентрации 100 мг/мл) (рис. 7).

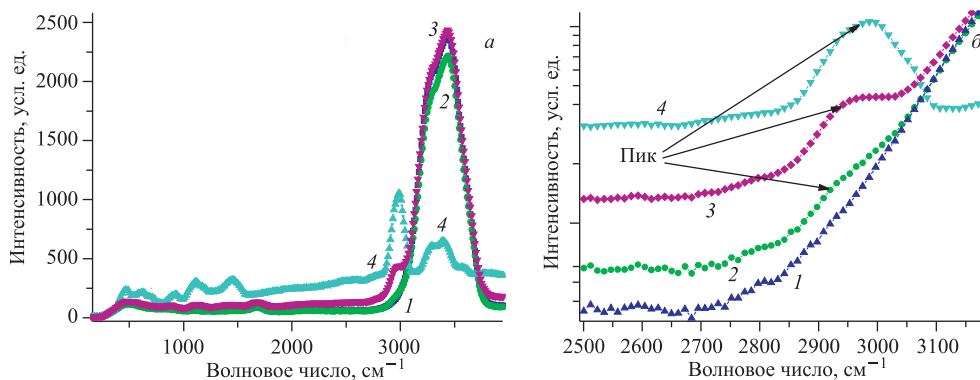


Рис. 6. Спектры КРС бидистиллята с добавлением белого сахара различной концентрации: 1 — бидистиллят; 2 — 12 мг/мл; 3 — 65 мг/мл; 4 — предельная концентрация белого сахара для температуры 20 °С

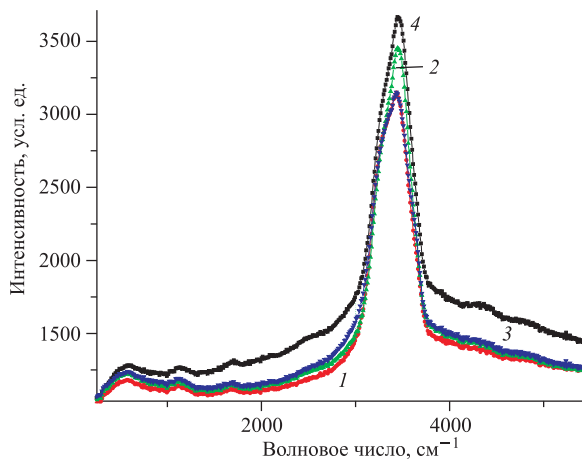


Рис. 7. Спектры КР бидистиллята (1) с добавлением различных примесей; 2 — NaCl (100 мг/мл); 3 — KOH (100 мг/мл); 4 — NaBr (100 мг/мл)

Для проверки возможности идентификации источника воды проведены измерения спектров КРС вод из различных источников: из артезианской скважины минеральной воды (г. Минеральные Воды), бутилированной минеральной воды марки «Кашинская», водопроводной воды и водопроводной воды, прошедшей двойную химическую очистку. Были сначала проведены измерения спектров КРС образцов обычной бутилированной минеральной воды «Кашинская» и «Славянская». Общий уровень минерализации этих проб составил 2–3 г/л. Для сравнения на рис. 8 приведены результаты измерения бидистиллята и обычной водопроводной воды. Наблюдается явное различие КРС данных образцов. Как видно из этих результатов, в спектре КРС воды из водопровода присутствует большая полоса люминесценции. Видно, что образцы минеральной воды и би-

дистиллята имеют очень близкие спектры КРС и отличаются от водопроводной воды. Таким образом, минеральная вода не имеет биологического субстрата, дающего люминесценцию.

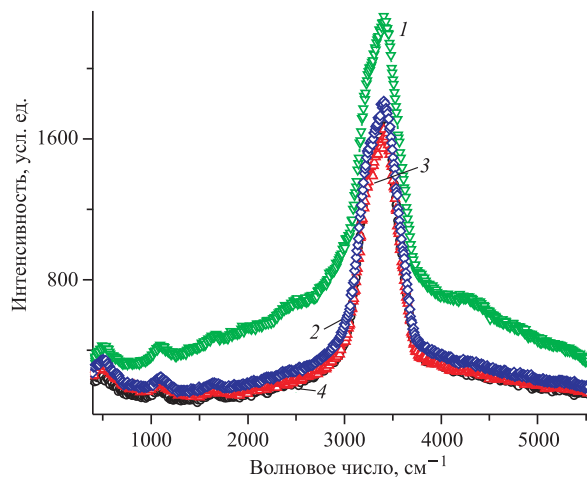


Рис. 8. Спектры КРС воды из разных источников: 1 — водопроводная; 2 — бидистиллят; 3 — марки «Кашинская»; 4 — минеральная

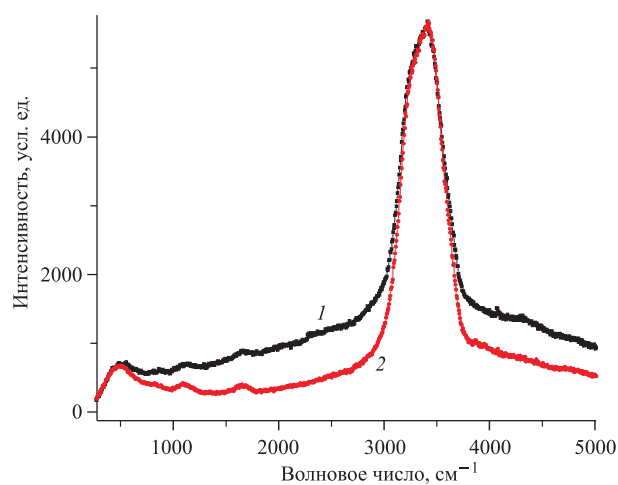


Рис. 9. Спектры КРС воды: 1 — водопроводной; 2 — водопроводной, прошедшей очистку через бытовой фильтр «Барьер-4»

В зависимости от происхождения воды эти линии люминесценции сильно меняются. Далее были проведены измерения спектров КРС водопроводной воды, прошедшей очистку в бытовом фильтре типа «Барьер-4». На рис. 9 представлены эти результаты. На рис. 9 видно уменьшение люминесценции органической примеси в спектре воды, прошедшей очистку через бытовой фильтр, примерно в два раза.

Исследовалось влияние обработки воды кристаллами кремнезема на структуру воды. Вода в замкнутом сосуде с кремнеземом настаивалась в течение 7 ч, количество кремнезема было около 50 г на 1 л воды. После этого проводились измерения спектров КРС воды. На рис. 10 представлены эти результаты в сравнении со спектрами КРС водопроводной воды. Виден эффект уменьшения биологического субстрата.

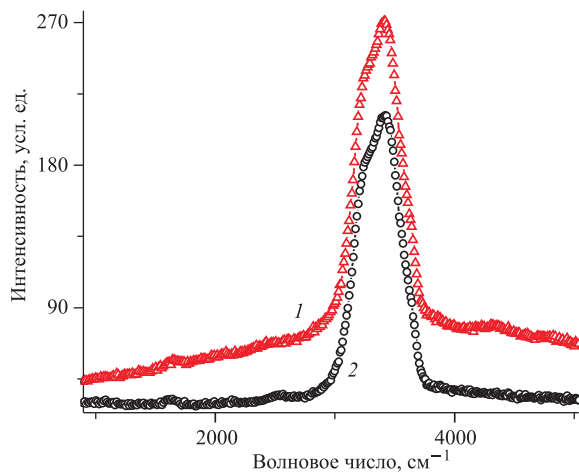


Рис. 10. Спектры КРС воды: 1 — необработанной; 2 — обработанной кремнеземом

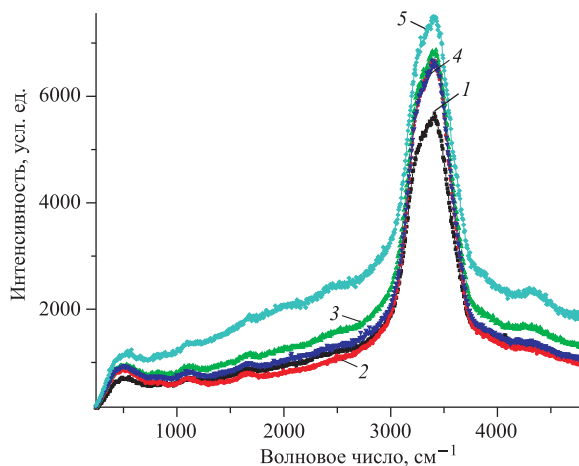


Рис. 11. Спектры КРС водопроводной воды, очищенной вымораживанием

Кремний структурирует молекулы воды, которые в результате приобретают свойство вытеснять из образованных жидкокристаллических решеток патогенные микроорганизмы, простейшие грибки, токсины и чужеродные химические элементы. В процессе приготовления кремневой воды они выпадают в осадок, содержащийся в нижнем слое воды. Коллоиды кремния обладают свойством «приклеивать» к себе болезнетворные



организмы, образуя с ними комплексные соединения. Как было обнаружено с помощью атомно-эмиссионного анализа, вода приобретает следовое количество кремнезема в процессе обработки.

Очень интересно проследить по спектрам КРС изменение примесей в процессе последовательного замерзания воды и выделения фракции, содержащей примеси. На рис. 11 представлены спектры КРС воды, прошедшей стадии замораживания и размораживания.

Водопроводная вода (спектр 1) замораживается при температуре  $-5^{\circ}\text{C}$ . В начале замерзания (через 3 мин) с нее снимается первый лед. После его таяния снимается спектр его КР (2). С оставшейся воды снимается спектр КРС (3), и она подвергается дальнейшему замораживанию. Через 30 мин основная часть воды замерзает, и можно разделить замерзшую воду и незамерзшую. После таяния и нагревания до комнатной температуры с них также снимаются спектры КРС (4 и 5 соответственно).

Видно, что при этом процессе происходит частичное уменьшение нерастворимого биологического субстрата, а примеси собираются в последнем водном остатке. Однако эффект влияния кремнезема на содержание биологического субстрата значительно выше, чем последовательного замерзания воды.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение можно сказать, что лазерный конфокальный сканирующий микроскоп позволяет проводить измерения спектров жидких сред, в частности воды, и что такой объект, как вода, представляет большой интерес, требует дальнейшего изучения и необходимого развития и усовершенствования методов очистки.

К основным выводам работы можно отнести следующие результаты:

1. По спектру комбинационного рассеяния водопроводной воды было установлено содержание в ней биологического компонента.
2. Показана большая эффективность обработки кремнеземом воды для ликвидации органики в ней и для насыщения воды кремнием, потребление такой воды полезно для здоровья.
3. Показана возможность определения количества тяжелой воды по линии КРС  $\nu = 2500 \text{ см}^{-1}$  вплоть до 1%.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бернал Дж., Фаулер Р. Структура воды ионных растворов // УФН. 1934. Т. 14, вып. 5. С. 586–644.
2. Сикорский Ю. А., Вертепная Г. И., Красильник М. Г. Физические свойства талой воды // Изв. вузов. Физика. 1959. № 3. С. 12–15.
3. <http://www.ecovod.com.ua>
4. Outline of Methods for Investigating Water Structure / Water Structure and Behavior. <http://www.isbu.ac.uk/water/>

108 *Ефимова Е. А., Ковалев Ю. С., Тютюнников С. И.*

5. *Самойлов В. Н., Тютюнников С. И., Шалыпин В. Н.* Прототип атомно-эмиссионного спектрометра на основе одноэлектродного импульсного ВЧ-разряда для аналитических измерений // Письма в ЭЧАЯ. 2004. Т. 1, № 1(118). С. 58–67.
6. *Efimov V. V. et al.* EXAFS, X-Ray Diffraction and Raman Studies of  $(\text{Pb}_{1-x}\text{La}_x)(\text{Zr}_{0.65}\text{Ti}_{0.35})\text{O}_3$  ( $x = 0.04$  and  $0.09$ ) Ceramics Irradiated by High-Current Pulsed Electron Beam // *J. Phys. Chem. of Solids*. 2006. V. 67. P. 2007–2012.
7. Molecular Vibration and Absorption. <http://www.isbu.ac.uk/water/>
8. *Rull F.* Structural Investigation of Water and Aqueous Solutions by Raman Spectroscopy // *Pure Appl. Chem.* 2002. V. 74, No. 10. P. 1859–1870.
9. *Becucci M. et al.* Accuracy of Remote Sensing of Water Temperature by Raman Spectroscopy // *Appl. Optics*. 1999. V. 38, No. 6. P. 928–931.
10. *Drozdzowska V., Babichenko S.* Natural Water Fluorescence Characteristics Based on Lidar Investigations of a Surface Water Layer Polluted by an Oil Film; the Baltic Cruise — May 2000 // *Oceanologia*. 2002. V. 44, No. 3. P. 339–354.
11. <http://langvey.ru>

Получено 1 декабря 2006 г.