

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ САХАРОВ В ПРИРОДНЫХ ВОДАХ

И. С. СИРОТКИНА, Н. К. ЩЕРБИНИНА, Г. М. ВАРШАЛ

(Институт геохимии и аналитической химии им. В. И. Вернадского АН СССР, Москва)

Углеводоподобные вещества и свободные редуцирующие сахара практически всегда присутствуют в поверхностных водах в концентрациях от 100 до 1000 *мкг/л* [4, 5, 8] и, по-видимому, относятся к числу главных компонентов растворенных органических веществ этих вод [5]. Они активно участвуют в процессах трансформации органических веществ и являются чувкими индикаторами изменения биологической ситуации в водоемах [7, 8]. Кроме того, углеводные остатки могут входить в состав молекул веществ других классов, в частности фульво- и гуминовых кислот [2].

Наибольшее распространение получили два метода определения сахаров в природных водах: окисление медным щелочным реактивом с последующим определением меди экстракционно-фотометрическим методом по реакции с диэтилдитиокарбаматом натрия [6, 7] и фотометрическое определение по реакции с парааминогиппуровой кислотой [4]. Чувствительность этих реакций не превышает 5—20 *мкг* в пробе. Одна из наиболее чувствительных реакций (1 *мкг* в пробе) — фотометрическое определение, основанное на восстановлении ионов железа с последующим образованием окрашенного ферроцианида меди или железа [9, 10]. Все эти реакции недостаточно селективны, поэтому главное условие получения точных результатов — предварительное отделение основной массы сопутствующих неорганических и органических компонентов вод, осуществляемое ионнообменными или экстракционными методами.

Целью настоящей работы было совершенствование методики определения сахаров в природных водах на основе использования новой селективной и высокочувствительной реакции меди с реагентом пикрамин-эпсилон [3]. В ранее выполненном исследовании [1] было показано, что прямое спектрофотометрическое определение меди (II) в водах по этой реакции может быть выполнено на фоне практически всех обычных неорганических и органических растворенных веществ природных вод [1].

Методика основана на восстановлении сахарами микроколичеств меди (II) в щелочной среде, отделении осадка закиси центрифугированием, окислении меди (I) смесью концентрированных соляной и азотной кислот с последующим спектрофотометрическим определением по реакции с пикрамин-эпсилон.

Реагенты и оборудование.

1. Центрифуга LSZ-49 (Венгрия).
2. Водяная баня.
3. Спектрофотометр СФД-2.

4. Центрифужные пробирки емкостью 10—12 мл.

5. Цилиндры мерные на 10 мл.

Реактивы.

1. Медный щелочной реактив.

Обычно рекомендуемые концентрации меди в реактиве Фелинга на много порядков превышают содержание сахаров в природных водах. Большой избыток меди существенно затрудняет отмывание осадка закиси ее центрифугированием. В серии экспериментов было показано, что 10—100-кратный молярный избыток меди вполне обеспечивает количественное окисление сахаров. Поэтому пропорции реагентов в медном щелочном реактиве нами видоизменены.

I раствор: 1,5 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 500 мл бидистиллированной воды.

II раствор: 40 г NaOH и 7,5 г сегнетовой соли в 500 мл бидистиллированной воды. Для приготовления медного щелочного реактива сливаем растворы I и II (1 : 1).

2. Стандартный раствор глюкозы 100 и 10 мкг/мл.

3. Стандартный раствор сахарозы.

4. Стандартный раствор гликогена.

5. Пикрамин-эпсилон, 0,1 %-ный водный раствор.

6. Концентрированные HCl ; HNO_3 ; HCl (1 : 1); 6HCl .

7. InH_2SO_4 .

Таблица 1

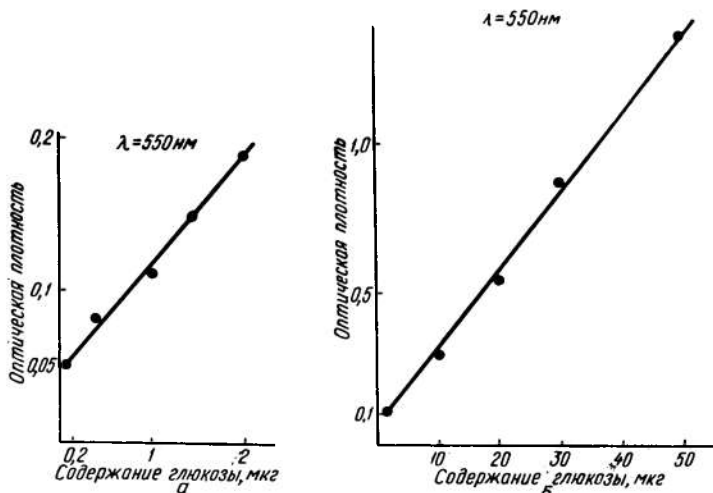
Содержание меди в промывных водах после центрифугирования

Введено глюкозы, мкг	Введено меди (II), мкг	Найдено в центрифугатах, мкг				
		I	II	III	IV	V
100,0	751,6	18,8	0,5	0,35	0	0
50,0	751,6	20,2	0,5	0,48	0,4	0
20,0	751,6	24,0	2,2	0,45	0,07	0
10,0	751,6	24,0	0,7	0,45	0,05	0
10,0	751,6	24,0	2,3	0,4	0	0
10,0	751,6	24,0	2,25	0,05	0	0

Определение свободных редуцирующих сахаров. К 5 мл исследуемой воды в центрифужной пробирке (из жаростойкого стекла, емкость 10 мл) или стандартного раствора, содержащего 0,01—10 мкг глюкозы, добавляют 1 мл медного реактива и нагревают на водяной бане в течение 15 мин. Охлаждают и центрифугируют при 5000 об/мин еще 15 мин. После отделения раствора осадок промывают бидистиллированной водой, отделяя промывные воды центрифугированием. Для выявления полноты отделения меди (II) от осадка закиси в центрифужных пробирках определяли медь в фильтратах после повторного центрифугирования (табл. 1). Как видим, даже при низком содержании меди в исходном реактиве лишь пятикратное центрифугирование меди обеспечивает полное отделение меди (II) от меди (I). Осадок закиси меди в пробирке обрабатывают при нагревании на водяной бане двумя-тремя каплями концентрированных соляной и азотной кислот, упаривают до влажных солей и два-три раза обрабатывают несколькими каплями соляной кислоты. Влажные соли в пробирке растворяют в 2 мл бидистиллированной воды, переносят в мерный цилиндр емкостью 10 мл, добавляют 0,25 мл HCl (1 : 1) и 0,4 мл 0,1 %-ного водного раствора пикрамина-эпсилон, тщательно перемешивают и после 10—15-ми-

нутного отстаивания измеряют оптическую плотность (Д) при $\lambda = 550 \text{ нм}$ в кюветах 10 мм. Чувствительность определения — 0,1 мкг сахаров в пробе (в расчете на глюкозу).

Специфическая особенность приведенного калибровочного графика (см. рисунок) состоит в наличии, по-существу, двух линейных участков: 0,1 — 2 мкг и 2 — 50 мкг. с резко отличными углами наклона, что связано, вероятно, с неодинаковым протеканием процесса окисления саха-



Калибровочный график определения содержания редуцирующих сахаров при различных их концентрациях — в пробе:

а — 0,1–2 мкг; б — более 2 мкг.

ров в области субмикро- и микроконцентраций. В зависимости от концентрации сахаров целесообразно строить два калибровочных графика. Коэффициент вариации при определении сахаров в исследуемом диапазоне концентраций 10–15%.

Таблица 2

Химический состав исследуемых проб (мг/л)

Место отбора проб	pH	Ca ²⁺	Mg ²⁺	НСО ₃ ⁻	Cl ⁻	SO ₄ ²⁻	Цветность, °	ПО, мгО ₂ /л	Фульво-кислоты	Гуминовые кислоты
р. Москва, Рублево, выше города	7,36	51,0	15,0	217,1	13,12	16,66	0	13,44	2,4	—
р. Москва, Лыткарино, ниже города	7,08	50,8	13,6	130,5	61,34	62,23	0	16,0	4,76	1,3
р. Блзна	6,56	12,63	3,28	28,07	3,55	1,2	225	86,4	18,8	29,68
Исток р. Волги	7,06	16,83	4,86	49,43	2,1	1,2	136	73,6	17,2	4,32

Определение редуцирующих сахаров в гидролизатах. Обычно применяют гидролиз в запаянных ампулах в присутствии соляной или серной кислот [7, 8]. В данной работе гидролиз проводили кипячением в кислой среде с обратным холодильником. При гидролизе в сернокислой среде 1 мл стандартного раствора гликогена, содержащего от 1 до 50 мкг гликогена, подкисляют концентрированной H₂SO₄ до pH 1. 100%-ный гидролиз проходил за 2 часа. Однако при гидролизе остатков, полученных упариванием природных вод, выпадает в осадок некоторое количество сульфатов, при удалении которых неизбежны по-

тери редуцирующих сахаров. Поэтому было решено проводить гидролиз кипячением в бн HCl с обратным холодильником. Стандартные растворы гликогена или сахарозы упаривают досуха, растворяют в бн HCl и кипятят с обратным холодильником. 100%-ный гидролиз проходит за 5—6 час.

Для определения редуцирующих сахаров в природных водах 5 мл исследуемой воды упаривают, растворяют в нескольких миллилитрах бн HCl и кипятят с обратным холодильником на водяной бане в течение 6 час. Затем гидролизат упаривают на водяной бане до влажных солей для удаления кислоты, растворяют в 2—3 мл бидистиллированной воды и переносят в центрифужные пробирки, доводя объем до 5 мл водой. Далее следуют методике определения свободных редуцирующих сахаров.

Таблица 3

Содержание редуцирующих сахаров в природных водах

Место отбора проб	Состав природных вод			Содержание свобод. ред. сахаров после введения глюкозы, мкг/л
	без обессоливания		после обессоливания	
	Свобод. ред. сахара, мкг/л	Полисахариды, мкг/л	Свобод. ред. сахара мкг/л	
р. Москва, Рублево	250	432	245	268 *
р. Москва, Лыткарино	134	412	130	151 *
р. Блезна	390	262	390	408 *
Исток р. Волги	400	100	—	448 **

Примечание. Введено глюкозы * — 20 мкг; ** — 50 мкг.

Таблица 4

Содержание редуцирующих сахаров в природных водах после обессоливания на целлюлозном анионите ДЕАЕ и целлюлозном катионе СМ

Место отбора проб	Без обессоливания		После обессоливания		Содержание свобод. ред. сахаров после введения глюкозы, мкг/л
	Свобод. ред. сахара, мкг/л	Полисахариды, мкг/л	Свобод. ред. сахара, мкг/л	Полисахариды, мкг/л	
р. Москва, исток	200	640	200	700	300 *
р. Москва, Рублево	250	432	248	440	296 **
р. Ока, выше Каширы	120	502	110	510	156 **
Исток р. Волги	400	100	406	115	452 **

Примечание. Введено глюкозы: * — 100 мкг; ** — 50 мкг.

Рекомендуемый метод применен для прямого определения сахаров в водах с резко отличным составом неорганических и органических микрокомпонентов и степенью загрязненности. Данные химического состава проб приведены в табл. 2. Для сопоставления определены сахара в тех же водах после деминерализации последних с помощью катионита КУ-2 (табл. 3). Результаты определения сахаров в природных водах после обессоливания на целлюлозных ионитах — анионите ДЕАЕ (диэтиламиноэтилцеллюлозе) и катионите СМ (карбоксиметилцеллюлозе) (табл. 4), свидетельствуют о том, что сахара можно определять в небессоленных пробах. Степень загрязненности и окрашенные органические вещества не влияют на точность определения.

Выводы

1. Предложенная методика определения микроколичеств сахаров в природных водах основана на использовании новой селективной и высокочувствительной реакции на медь с реагентом пикрамин-эпсилон.

2. Определение сахаров в природных водах возможно без предварительного отделения основной массы сопутствующих компонентов с чувствительностью 0,1 мкг в пробе при коэффициенте вариации не более 10—15%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Варшал Г. М., Велюханова Т. К., Дедков Ю. М. 1972. Спектрофотометрическое определение меди в природных водах по реакции с пикрамин-эпсилон. «Тез. докл. XXV гидрохим. совещ.»
2. Власова Т. А. 1965. О содержании органического углерода, органического азота и редуцирующих сахаров в некоторых водоемах северо-востока Европейской части СССР. «Гидрохим. мат-лы», 39.
3. Дедков Ю. М., Колузанова В. П., Киракосян А. К. 1970. Пикрамин-эпсилон как реагент для фотометрического определения меди (II). «Ж. аналит. хим.», 25, 8.
4. Ивлева И. Н., Семенов А. Д., Дацко В. Г. 1964. Методы определения редуцирующих сахаров в природных водах с парааминогиппуровой кислотой. «Гидрохим. мат-лы», 38.
5. Кузнецов Ю. В., Щebetковский В. Н., Трусов А. Г. 1968. Основы дезактивации воды. Атомиздат, М.
6. Семенов А. Д., Ивлева И. Н., Дацко В. Г. 1961. Методика определения микрограммовых количеств редуцирующих сахаров в природных водах с помощью щелочного раствора двухвалентной меди. «Гидрохим. мат-лы», 34.
7. Семенов А. Д., Ивлева И. Н., Дацко В. Г. 1964. Определение редуцирующих сахаров в гидролизатах органического вещества природных вод. «Гидрохим. мат-лы», 36.
8. Семенов А. Д. 1971. Органическое вещество в поверхностных водах Советского Союза. Автореф. дисс., Новочеркасск.
9. Шаова Л. Г., Каплин В. Т. 1969. Колориметрический метод определения редуцирующих сахаров в природных водах. «Мат-лы XXIII гидрохим. совещ.»
10. Park I. T., Johnson M. I. 1949. A submicrodetermination of glucose. «J. Biol. Chem.», 181.

Поступила 3. X 1972 г.

УДК 577.472.084

ПРИМЕНЕНИЕ ЖАВЕЛЕВОЙ ВОДЫ В ГИДРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

Ю. С. ЧУЙКОВ

(Каспводнадзор — Астраханский государственный заповедник)

Жавелевую воду — насыщенный хлором 10-ный раствор едкого калия — давно успешно применяют для выделения челюстного аппарата коловраток*. В других случаях гидробиологи используют этот раствор сравнительно редко.

В то же время им с успехом можно пользоваться для просветления препаратов многих водных животных. При добавлении нескольких капель жавелевой воды под покровное стекло можно добиться полного растворения мышечных тканей Chydoridae, а обычно с трудом разлагаемые головные поры и ретикуляция проявляются на сохранившихся по-

* Кутикова Л. А. 1970. Коловратки фауны СССР. Изд-во «Наука», Л.