

**БИКБУЛАТОВ Э. С.  
БИКБУЛАТОВА Е. М.  
СТЕПАНОВА И. Э.**

**ГИДРОКСИЛАМИН  
И ГИДРАЗИН  
В ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ**

**2007**

**РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ВНУТРЕННИХ ВОД  
им. И.Д. Папанина**

**Э.С. Бикбулатов, Е.М. Бикбулатова,  
И.Э. Степанова**

# **ГИДРОКСИЛАМИН и ГИДРАЗИН В ВОДНЫХ ЭКОСИСТЕМАХ**

**БОРОК  
2007**

УДК 574:66+546.171+556.551.4

Э.С. Бикбулатов, Е.М. Бикбулатова, И.Э. Степанова.  
Гидроксиламин и гидразин в водных экосистемах. – Рыбинск:  
Изд-во ОАО «Рыбинский дом печати». 2007. – 128 с.

В монографии приведены краткие сведения о химических, термодинамических, физических свойствах гидроксиламина (ГА) и гидразина (ГН). В связи с промышленным производством ГА и ГН и их широким использованием в народном хозяйстве освещены вопросы токсикологии этих соединений. Рассматриваются вопросы круговорота азота в гидросистемах. Существенное внимание обращается на широкомасштабные природные процессы азотфиксации, нитрификации, денитрификации, приводящие к образованию ГА и ГН. Подробно освещаются вопросы пространственного и сезонного распределения ГА и ГН в водоемах различной степени трофии - озерах, водохранилищах, океанах. Книга может быть полезной экологам, гидрохимикам, гидробиологам.

ISBN 978-5-88697-159-0

Bikbulatov E.S., Bikbulatova E.M., Stepanova I.E. Hydroxylamine and hydrazine in aquatic ecosystems.

The book presents brief information on chemical, thermodynamic, physical properties of hydroxylamine (HA) and hydrazine (HN). In view of their industrial production and wide use in industry, toxicology of these compounds is covered in the monograph. Cycles of nitrogen in hydroecosystems are considered. A special attention is paid to large-scale natural processes of nitrogen fixation, nitrification, denitrification causing formation HA and HN. Spatial and seasonal distribution HA and HN in waterbodies of different trophic status – lakes, reservoirs, oceans are discussed in greater detail. The book can be of special interest to ecologists, hydrochemists, hydrobiologists.

Книга издается при финансовой поддержке РФФИ.

Проект 04-05-64612.

Рецензент: Доктор географических наук А.С. Литвинов.

ISBN 978-5-88697-159-0

© Бикбулатов Э.С.  
© Бикбулатова Е.М.  
© Степанова И.Э., 2007

## Введение.

В числе глобальных экологических проблем сохранение чистоты природных вод занимает особое место. Неравномерность географического распределения источников пресной воды и подверженность их загрязнениям определяют существование критически острых (а иногда катастрофических) ситуаций дефицита доброкачественной воды во многих регионах земного шара. Помимо синтезируемых человеком и никогда не встречающихся в природе крайне устойчивых к деградации токсических соединений (например, ДДТ, многие пестициды и инсектициды) в водоемы в заметных количествах поступают соединения, служащие питательной средой для многих видов гидробионтов. В связи с этим естественный процесс эвтрофирования (увеличения продуктивности), обычно длящийся века, ускоряется многократно и приводит к преждевременному старению водоемов, а главное, к существенному ухудшению потребительских качеств их вод. Процесс эвтрофирования обычно связывают с обогащением водоемов биогенными веществами.

Это ускоренное, или «антропогенное», эвтрофирование вызывается преимущественно увеличением выноса соединений азота и фосфора с суши в водоемы за счет хозяйственной деятельности на водосборах. Поэтому при обсуждении проблем эвтрофирования на соединения N и P всегда обращается особое внимание. Среди соединений N и P имеется много ядовитых веществ, например, такие как гидроксиламин (ГА) и гидразин (ГН), что еще более актуализирует задачу всестороннего изучения этих элементов в природных средах. Указанные неорганические формы азота могут попадать в водные экосистемы не только в результате человеческой деятельности, но и образуются в самом водоеме в результате крупномасштабных естественных процессов нитрификации, денитрификации и азотфиксации. Это еще одна из важных причин, почему на соединения биогенных элементов следует обращать особое и пристальное внимание.

Трансформация биогенных элементов, в первую очередь соединений азота, в водных экосистемах, представляет собой чрезвычайно сложный процесс, протекающий с участием огромного числа организмов и вирусоподобных частиц. Изменения концентраций соединений азота являются результатом многих биохимических процессов. Главными из них являются:

1. Потребление и выделение органического азота гетеротрофными микроорганизмами и водорослями в результате их жизнедеятельности и посмертного распада.
2. Фиксация атмосферного азота водорослями и бактериями.
3. Ассимиляция аммония, нитритов, нитратов и других неорганических форм азота авто- и гетеротрофами.
4. Выделение аммония при дезаминировании растворенного и клеточного органического вещества в процессах аммонификации.
5. Ферментативный гидролиз белков и полипептидов в растворе и на взвесьях с образованием менее сложных соединений, вплоть до простейших аминокислот.
6. Окисление аммония, гидросиламина, гидразина, мочевины, нитритов и других промежуточных соединений автотрофными и гетеротрофными нитрифицирующими бактериями.
7. Редукция нитратов, нитритов и других кислородсодержащих азотных соединений (например, закиси и окиси азота) денитрифицирующими бактериями, главным образом в анаэробных условиях.
8. Биологическая трансформация взвешенного органического азота (организмов и детрита) до образования растворенных соединений.
9. Окисление аммония и других восстановленных соединений азота в анаэробной среде, в открытом недавно и названном пер-вооткрывателями Анаммокс процессе.

Это далеко не полный перечень происходящих в водных массах и донных отложениях процессов трансформации азотсодержащих веществ. Вследствие исключительной важности соединений азота в функционировании экосистем, в том числе вод-

ных, исследованиям самых разнообразных сторон их существования и преобразования в природе посвящены многие тысячи работ, и этот поток исследований не прекращается. В то же время «по всем звеньям сложной цепи азотного цикла имеются лишь фрагментарные оценки скоростей процессов, полученные в основном в лабораторных условиях. Однако скорости лишь двух процессов изучены в широком спектре изменений условий среды: потребления и регенерации соединений азота микроорганизмами (в связи с изучением первичного продуцирования) и нитрификации (в связи с проблемой качества вод). Главная причина сложности исследования кинетики и механизма трансформации форм азота - комплексность, так как практически все виды микроорганизмов принимают участие в процессах превращения веществ, содержащих азот» [54, 55].

Многие формы биогенных элементов в природных водах содержатся в микро- и нанограммовых концентрациях [1], для надежного детектирования которых требуются очень чувствительные и тонкие методы анализа. Несмотря на значительные усилия многих исследователей, задача разработки приемлемых методов определения ряда форм биогенов, в том числе ГА и ГН, в природных водах остается далекой от окончательного решения.

Знание закономерностей поведения азотсодержащих компонентов в природных водах представляет не только научный, но и практический интерес. По кинетике трансформации биогенных элементов можно оценить время их жизни в водоеме и тем самым придти к выводам о самоочищающей способности природных вод. Эти сведения важны при оценках допустимой степени биогенной нагрузки на водоем, что напрямую связано с финансовыми тратами на очистку сточных вод.

Все эти вопросы в той или иной степени затрагиваются в данной работе. Приводятся сведения по основным химическим и физическим свойствам ГА и ГН, методам их обнаружения и количественного определения в растворах и природных объектах. Рассматриваются процессы фотосинтеза, деструкции, азотфиксации, нитрификации, денитрификации, ведущие к образованию

ГА и ГН в природных условиях, и место их в глобальном и частном циклах азота. Авторы надеются, что книга будет полезной экологам, гидрохимикам, гидробиологам и всем тем, кого интересуют проблемы круговорота азота.

Авторы приносят искреннюю благодарность своим ближайшим помощникам Щеглову Д. Е., Михайловой В.М., Куликовой А.П., Румянцевой О.А., Смирнову А.

## **1. Круговорот азота.**

Одним из важнейших биогеохимических циклов нашей планеты является азотный. Азот входит в структурный состав белков, аминокислот, ДНК и РНК, многих других простых и сложных молекул, поэтому является одним из важнейших элементов, необходимых для жизнедеятельности всего живого на Земле – от микроорганизмов до человека. Огромные запасы азота сосредоточены в атмосфере. В составе сухого воздуха вблизи земной атмосферы содержится по объему 78% , на высоте 65 км - 80, 80 км – 78 и 95 км – 77% молекулярного азота. В качестве примесей в воздухе содержатся в среднем  $5 \cdot 10^{-5}$  % закиси азота и до  $2 \cdot 10^{-6}$  % двуокиси азота [60]. Все газообразные продукты воздушного океана всегда находятся в подвижном равновесии с аналогичными компонентами, растворенными в природных водах. Расчеты в соответствии с законом Генри показывают, что при нормальном давлении 1 атм и близкой к нулю температуре в воде растворяется 23.2 мг/л азота. С повышением температуры растворимость падает. На содержание азота в природных водах оказывает влияние и интенсивность химических, гидрофизических, биологических процессов. При хорошем ветровом перемешивании содержание азота может стать выше равновесной концентрации, и тогда некоторая его доля будет находиться в свободном состоянии в виде мельчайших пузырьков. Поэтому в природных водах в безледные периоды часто существует равновесие: растворенный азот в виде молекулярного раствора  $\leftrightarrow$  свободный азот в газообразном виде.

В почвах и природных водах азот присутствует в нескольких формах, которые под воздействием различных факторов постоянно переходят друг в друга и находятся в динамической взаимозависимости. Эту зависимость описывают в виде круговорота азота – глобального или частного. Проведены оценки относительных вкладов потоков азота в глобальном цикле. По данным Штралеров [92] из 100% поступающего из атмосферы в почвы и природные воды азота 81% фиксируется наземными организмами и растениями, 5% водными и 14% просто растворяется. Между сухопутной и водной средой обитания происходит постоянный обмен, причем преобладает поступление с суши в водоемы, что подчеркивает особую важность терригенных источников для водной среды. В аэробных условиях развиваются процессы нитрификации, продукты которых, попадая в анаэробную среду, подвергаются денитрификации, что приводит к переходу фиксированного азота обратно в газообразную форму. Последний возвращается в атмосферу, завершая глобальный круговорот. По оценкам тех же авторов, из наземных систем в атмосферу возвращается 31% суммарно фиксированного на суше и в воде азота, из водных – 56%, несмотря на то, что общая биомасса в воде составляет только 1/30 часть биомассы на суше. Почти двукратное превышение отдачи водой азота происходит за счет во много раз более быстрой оборачиваемости элементов: примерно месяц в сравнении с 5 годами для наземных экосистем [92]. Данные о количестве азота, вовлекаемого в общий круговорот, крайне противоречивы: от примерно  $2 \cdot 10^9$  т (без учета антропогенных источников) до  $10^{11}$  т/год. Приводятся варианты получения связанного азота: синтез оксидов азота в атмосфере грозowymi разрядами – 7.6; фиксирование атмосферного азота микроорганизмами – 30, бобовыми – 14, синезелеными водорослями – 10; синтез азотных удобрений человеком 30. Всего около 92 млн т/год связанного азота [5].

В наиболее общем виде схема круговорота азота может быть представлена следующим образом:



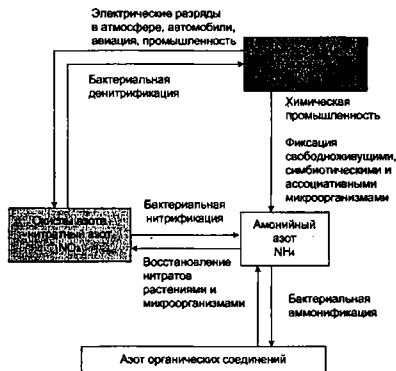


Рис. 1. Круговорот азота в природе [44].

В круговороте соединений азота чрезвычайно большую роль играют микроорганизмы: азотфиксаторы, нитрификаторы, денитрификаторы, которые осуществляют глобальные процессы преобразования одних форм азота в другие. Специфическая роль азота в биологических процессах обусловлена устойчивостью в обычных условиях его соединений почти со всеми возможными степенями окисления: от  $-3$  в аммиаке до  $+5$  в нитратах. Такими свойствами обладает крайне ограниченный круг элементов, например, углерод и сера. В тканях животных, растений и микроорганизмов основная часть азота (возможно, весь азот) присутствует в виде различных соединений, содержащих азот в аминной, т.е. в своей наиболее восстановленной форме. Дальнейшие его преобразования связаны с переходом в ряд более окисленных состояний вплоть до нитратов. Многие организмы способ-

ны осуществлять обратный процесс – перевод нитратов в соединения азота с более высоким энергетическим потенциалом.

Общую схему производимых ими преобразований схематично можно представить следующим образом (рис. 2).

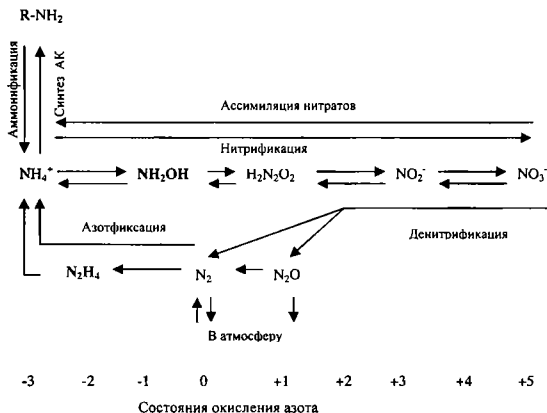


Рис. 2. Биохимические реакции, определяющие распределение азотсодержащих соединений в биосфере (по [194]. С нашими дополнениями).

В озерах цикл азота включает следующие основные пути: приток соединений азота с водосборных площадей и с осадками, фиксацию молекулярного N микроорганизмами, ассимиляцию

минеральных соединений N при развитии фитопланктона и бактерий, усвоение органического азота гидробионтами, разложение азотсодержащих органических веществ до аммиака аммонифицирующей микрофлорой, окисление аммония до азотистой и азотной кислот, восстановление последних денитрифицирующими бактериями до газообразных продуктов и захоронение соединений азота в донных отложениях или вынос с речным стоком и в атмосферу [52]. Если исключить из рассмотрения процессы пополнения и убыли азота в водоемах и водотоках за счет притока и стока поверхностных вод, атмосферных осадков, то все остальные превращения азота практически связаны с деятельностью микроорганизмов и водорослей. Основные пути микробальной трансформации неорганических азотсодержащих компонентов по М. Джеттену [135] катализируются ферментами (рис. 3).

Многочисленные аналогии существуют между озерными и речными системами в отношении круговорота азота. Базируясь на работах С.И. Кузнецова [52] и Ветцеля [194], можно представить обобщенную схему потоков азота для некоего гипотетического озера (рис. 4). Несмотря на отраженные в ней многочисленные пути, и она не может претендовать на полноту. Мы приводим ее здесь, поскольку она дает довольно хорошее представление о сложности путей и наиболее общих особенностях трансформации азотсодержащих соединений, входящих в водные экосистемы, и помогает наметить возможные направления будущих исследований.

Часто основная масса органических и неорганических соединений азота поступает с водосборной площади и с осадками. В терригенном стоке азотных соединений почти всегда больше, чем поступает с атмосферными осадками. Однако встречаются и обратные случаи.

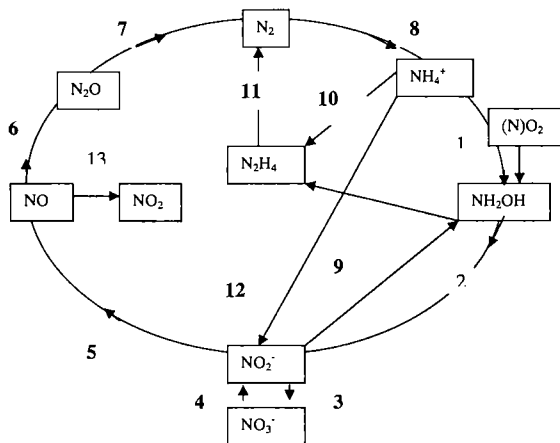


Рис. 3 . Возможные пути микробиальной трансформации азот-содержащих соединений. **Нитрификация:** (1) окисление аммония до гидросиламина катализируется аммоний монооксидазой с использованием  $\text{O}_2$  или  $\text{NO}_2$  в качестве источника кислорода; (2) гидросиламин окисляется до нитрита гидросиламин оксидоредуктазой; (3) нитрит окисляется до нитрата нитрат оксидоредуктазой.

**Денитрификация** нитрат (4), нитрит (5), окись азота (6) и закись азота (7) редуктазами. **Азотфиксация** нитрогеназой (8). **Анаэробное окисление аммония** предположительно нитритредуктазой (9); гидразин образующим энзимом (10) и гидразин оксидоредуктазой (11). **Аммонификация** нитритредуктазой (12).

**Окисление NO до  $\text{NO}_2$**  предположительно NO оксидазой (13). **Ассимиляция аммония** на схеме не показана.

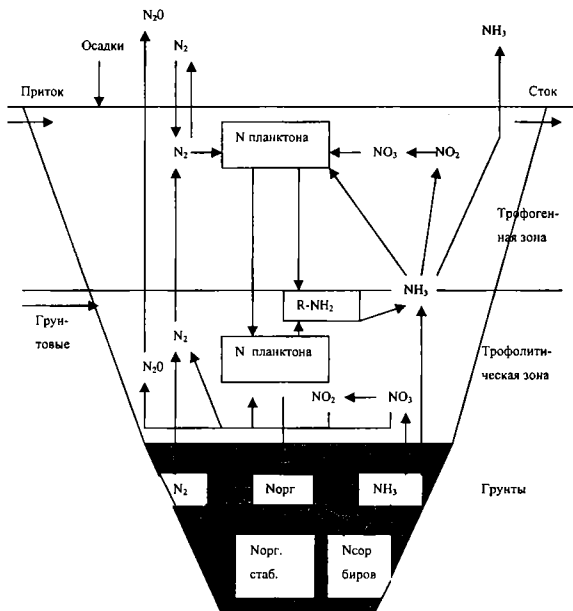


Рис. 4. Обобщенная схема круговорота азота в озерах.

Nорг.стаб. - трудноразлагаемая часть органических веществ, Nсорбиров. - сорбированные на частицах грунтового комплекса органические и неорганические соединения азота, N планктона включает азот литоральной растительности.

Неорганические формы легко ассимилируются литоральной растительностью, фитопланктоном и бактериями и переходят в белковый азот. Многие из этих организмов способны усваивать азот и в виде более сложных соединений, таких как мочевина и аминокислоты. Второй путь включения азота в состав клеточного вещества – фиксация растворенного в воде молекулярного азота, осуществляемая рядом синезеленых водорослей и бактерий. Этот процесс может проходить как в аэробной, так и анаэробной среде. Отмершие организмы немедленно подвергаются бактериальной атаке; при их разложении в окружающую среду выделяются ионы аммония, которые уже в водной толще перехватываются фитопланктоном. Интенсивность процесса аммонификации в озерах и водохранилищах очень высока. По оценкам Кузнецова С.И. белковый азот в значительной мере (до 90%) минерализуется еще в водной массе [52]. По нашим расчетам в водной толще Рыбинского водохранилища подвергается разложению около 60% клеточного азота [18]. Остальная часть переходит в донные отложения, где подвергается дальнейшим превращениям, часто уже в анаэробных условиях. Некоторая доля трудно гидролизующих гумусоподобных соединений остается в илах в течение длительного времени. На схеме показан и процесс физического удержания достаточно хорошо растворимых минеральных соединений азота. Процессу сорбции подвергается обычно аммонийный азот. В придонных слоях и в поровых водах существует динамическое равновесие между растворенной и адсорбированной частями.

Аккумулированные в донных отложениях соединения биогенных элементов могут стать внутренним источником биогенов (вторичное загрязнение) [59]. В олиготрофных водоёмах важную роль в формировании потока азота со дна играет концентрационная диффузия и конвективный перенос растворенных органических и минеральных соединений, а в мезо- и эвтрофных водоёмах - в основном минеральных соединений, причем N - в форме аммония. Количество выделяющегося азота в течение годового цикла из донных отложений в воду для разных озёр и во-

дохранилищ достигает 35-50% от всего пула азота, поступающего в донные отложения. В Днепровских водохранилищах средний поток аммонийного азота обеспечивает до 20 - 25% суточной потребности планктона в азоте [37]. Часть аммонийного азота, поступающего в водную массу из илов и образующегося в процессе деструкции тел отмерших организмов, подвергается нитрификации. В качестве конечного продукта образуются хорошо растворимые нитраты, способные вступать в различные биохимические реакции. Основной причиной безвозвратной потери водоемами азота, помимо наиболее значимого процесса - естественного стока, является денитрификация. В результате образуются молекулярный азот и закись азота, избыток которых над равновесным распределением в системе вода - воздух выносятся в атмосферу.

Во многих водоемах потери азота могут быть обусловлены выносом аммиака. При относительно высоких значениях pH, которые создаются в периоды цветения фитопланктона, ионы аммония переходят в газовую фазу, что способствует их улетучиванию из водной массы. В частности, вода океанов имеет слабо щелочную реакцию ( $\text{pH} > 8$ ), поэтому она может медленно отдавать аммиак в воздух, но количественно определить этот приток аммиака в атмосферу из морей и океанов очень сложно. Процессу улетучивания способствует ветровое перемешивание. Только для некоторых озер проведена надежная количественная оценка потерь азота путем улетучивания аммиака. Для краткости, в дальнейшем будем называть этот процесс дезаммонификацией водоема. В ряде случаев он настолько значим, что играет решающую роль в круговороте азота. В частности, было показано, что в одном из мелководных гипертрофных озер Канады интенсивность дезаммонификации почти на порядок превышала скорость его потребления фитопланктоном [152]. Подчеркнута заметная роль этого процесса в круговороте азота в оз. Севан [2, 3]. Априори можно полагать, что дезаммонификация имеет место и в других водоемах, особенно в периоды цветения воды, когда pH повышается до 8-9 и более единиц.

Для ряда водных экосистем получены представления о частных циклах азота [104, 128]. Для оз. Саммаиш (США) количественно определены потоки различных форм биогенов и их оборачиваемость в трофогенной и трофолитической зонах, составлены балансы азота за весенне-летний (с 26 марта по 21 июня 1975 г.) и летне-осенний (с 25 июня по 1 октября 1974 г.) периоды (Рис. 5).

Интенсивность процессов трансформации азотсодержащих соединений в целом для экосистемы озера весной оказалась выше по сравнению с летом. В то же время в трофогенной зоне биогенные элементы значительно быстрее оборачиваются летом, чем весной. Это связано главным образом с температурными условиями и мало зависит от вида водорослей, поскольку их клетки имеют примерно одинаковый биохимический состав. Различия численных значений показателей интенсивности процессов для одной и той же водной экосистемы могут меняться не только по сезонам, но и по годам. Здесь определяющую роль играют климатические условия.

Для ряда экосистем определяющую роль в выносе азота играет нитратная форма азота. По изотопному составу нитраты, образующиеся в процессе микробной нитрификации, отличаются от нитратов, выпадающих с атмосферными осадками, и это обстоятельство может дать надежную информацию о генезисе и частном круговороте азота. Проведенные в Канаде на нескольких лесных водосборах исследования изотопных отношений  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  and  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  показали, что в дренируемых водах основная масса нитратов имеет микробиологическое происхождение [173].

Естественные и искусственные процессы синтеза и трансформации азотсодержащих соединений, носящие глобальный характер, не могут не отразиться на содержании ГА и ГН в природных экосистемах. В тех или иных количествах они должны встречаться повсеместно.



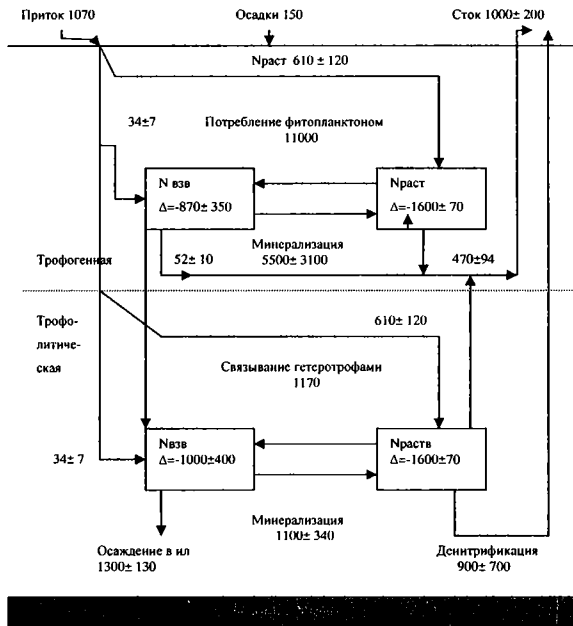


Рис. 5. Потоки различных форм азота в оз. Саммамиш в весенне-летний период 1975 г. [104].

## Природные процессы, ведущие к образованию ГА и ГН.

### **2. Фотосинтез фитопланктона и деструкция синтезированного органического вещества.**

Круговорот азота в любых экосистемах в наиболее общих терминах может быть описан через продукцию и деструкцию органического вещества (ОВ), которые осуществляют фотосинтезирующие организмы (водоросли, бактерии) и деструкторы. Первые, поглощая из воды и воздуха простейшие неорганические продукты  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$  и др., создают органические соединения – основу для жизнедеятельности всех последующих звеньев трофической цепи, в том числе и человека. Вторые, наоборот, осуществляют перевод сложных органических веществ в более простые соединения, в конечном счете, в те же самые простейшие неорганические продукты.

В самом общем виде глобальные процессы продукции и деструкции в экосистемах могут быть представлены следующей базовой системой уравнений [10], на основе которой получено множество дополнительных сведений об обобщенных показателях свойств органического вещества природных вод:

$$\text{C}_a\text{H}_b\text{N}_d\text{O}_f + \left(2a + \frac{b-3d}{2} - f\right)\text{O} \leftrightarrow a\text{CO}_2 + \frac{b-3d}{2}\text{H}_2\text{O} + d\text{NH}_3$$

$$\text{C}_a\text{H}_b\text{N}_d\text{O}_f + \left(2a + \frac{b}{2} - f\right)\text{O} \leftrightarrow a\text{CO}_2 + \frac{b}{2}\text{H}_2\text{O} + \frac{d}{2}\text{N}_2$$

$$\text{C}_a\text{H}_b\text{N}_d\text{O}_f + \left(2a + \frac{b+5d}{2} - f\right)\text{O} \leftrightarrow a\text{CO}_2 + \frac{b-d}{2}\text{H}_2\text{O} + d\text{HNO}_3$$

При чтении справа налево первое и третье уравнения отражают процессы синтеза ОВ, когда в качестве источника азота для построения тел продуцентов используются аммонийная и нитратная формы, второе – синтез ОВ азотфиксирующими организмами. При прямом чтении получаем общее представление о процессах деструкции. Целесообразность и достаточность рассмотрения только трех уравнений может быть дополнительно обос-

нована анализом химических методов окисления обычно применяемых при исследованиях ОВ природных вод и почв. Первое уравнение справедливо для процесса окисления ОВ бихроматом калия в серноокислой среде в присутствии серноокислого серебра (определение ХПК), второе – при сжигании ОВ в калориметрических бомбах (определение калорийности) и третье отражает стехиометрию окисления бихроматом калия в фосфорноокислой среде.

На базе этих стехиометрических соотношений одним из авторов получены функциональные связи между элементарным составом и множеством обобщенных показателей свойств живого и «косного» природного ОВ, таких как калорийность, кислородные эквиваленты, биохимический состав, степень окисленности и др., которые могут быть использованы в гидрохимии, гидробиологии, почвоведении и других областях знания [10].

В водоемах главенствующая роль в созидании ОВ принадлежит планктонным водорослям. Формирование химического состава первичных продуцентов происходит в самых разнообразных условиях окружающей среды и зависит от множества факторов.

Важность знания химического и биохимического состава водорослей для гидробиологии осознана давно и подобным исследованиям посвящено значительное число ранних работ [4, 32, 105, 106, 108, 111, 144]. В них рассмотрены макро- и микрокомпоненты, различные группы функционально важных соединений и т.п. Ясно, что от соотношения белков, углеводов и липидов в планктоне зависят качество и количество промежуточных и конечных продуктов их разложения, в том числе и образующихся соединений биогенных элементов. Скорость и степень распада отмерших остатков организмов также непосредственно связаны с их первоначальным химическим составом. Относительное содержание биохимических компонентов в водорослях в значительной мере зависит от условий их роста. При выращивании в условиях разной освещенности или в различных питательных средах одной и той же культуры *Chlorella*

ругenoidosa содержание компонентов ОВ в ней меняется в широких пределах: белков от 7.3 до 88%, углеводов от 4.8 до 38%, липидов (жиров) от 4.5 до 86% (в расчете на сухое беззольное ОВ) [174]. О больших различиях биохимического состава культур водорослей свидетельствуют и данные других авторов [4, 9, 64, 70, 87, 122, 123]. С таким обстоятельством сталкиваются и при изучении природного фитопланктона [64, 105, 106], что в значительной мере связано с широкой вариабельностью физических и химических параметров природной внешней среды. Кроме того, на химический состав водорослей оказывают влияние индивидуальные, возрастные и другие особенности различных видов [64].

В то же время выращенные в одинаковых условиях культуры далеких друг от друга систематических групп морских водорослей содержат примерно одинаковое количество белков, жиров и углеводов [158].

Если же рассматривать элементный состав природного сообщества водорослей по отношению к сухому беззольному органическому веществу, то соотношение между главными элементами - углеродом, азотом и фосфором - в разных видах планктонных организмов меняется не очень значительно, хотя различия в биохимическом составе могут оставаться довольно существенными. На основании результатов анализа морского планктона Флеминг [178] нашел, что для него можно принять среднее соотношение C:N:P (в атомном выражении), равным 106:16:1. Сцекиелда [179], основываясь на более поздних, но менее обширных данных по составу морского планктона, полагает, что аналогичное соотношение близко к 112:14.5:1, что в целом незначительно отличается от вышеприведенного. Для пресноводного планктона из-за малого числа определений таких соотношений пока не удалось установить. Для смешанного озерного планктона на основании результатов анализа [48], по нашим расчетам, атомное соотношение C:N = 106:13.5. Практически к такой же величине приводят и усредненные данные по элементному составу 6 лабораторных культур пресноводных

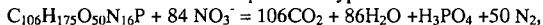
водорослей [147], где C:N = 106:14. Наименьшим колебаниям подвержено содержание углерода в сухом беззольном органическом веществе, которое для морского планктона находится в пределах 45-55% [175] и в среднем составляет около 50%. В пресноводном планктоне по результатам небольшого числа анализов [48, 147] содержание органического углерода не выходит за указанные для морского планктона пределы. Вариации в содержании органического азота больше, особенно сильны колебания в содержании фосфора, т.е. чем меньше элемента содержится в водорослях, тем больше амплитуда его варьирования.

Установленные соотношения элементов в беззольном органическом веществе смешанного планктона позволяют получить сравнительно простые эмпирические формулы, отражающие его биохимический состав. Основываясь на соотношении C:N:P=106:16:1 и, предполагая, что степень окисленности углерода в органическом веществе планктона такая же, как и в простых углеводах и, что азот находится в аминной форме, а фосфор в виде фосфата, Ричардс [165] получил для морского планктона формулу  $(\text{CH}_2\text{O})_{106}(\text{NH}_3)_{16}\text{H}_3\text{PO}_4$ . Аналогичная формула для того же морского планктона предложена Сцекиелда  $(\text{CH}_2\text{O})_{224}(\text{NH}_3)_{29} 2\text{H}_3\text{PO}_4$ . Если рассчитать процентные содержания входящих в них элементов, то получим: для формулы Ричардса C = 35.8, N = 6.3, P = 0.9, O = 49.7, H = 7.4%; для формулы Сцекиелда C = 36.4, N = 5.5, P = 0.8, O = 50.3, H = 7.1%. Практическая идентичность элементного состава в обоих случаях не вызывает сомнений, но обращает на себя внимание относительно низкое содержание углерода и высокое содержание кислорода, тогда как при прямом аналитическом определении в беззольном сухом органическом веществе никогда не получают подобных величин. Соответственно низким являются и значение кислородного эквивалента, которое в этом случае составляет всего 1.27. Кроме соотношения C:N:P = 106:16:1, справедливого для морского планктона, которым вероятно можно пользоваться и при грубых оценках масштабов глобальных процессов и для пресноводного фитопланктона, необходимо дополнительно рас-

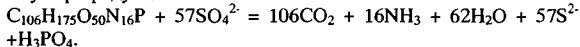
смотреть еще 2 параметра, по которым имеются многократно проверенные и надежные данные. Это среднее содержание углерода в ОВ планктона (~50%) и средний кислородный эквивалент ОВ (КЭ = 1.5) [75,76]. При рассмотрении большего количества аналитических данных по озерному фитопланктону нами получено значение КЭ = 1.45. С учетом трех постоянных - C:N:P = 106:16:1; C=50%; КЭ=1.45, рассматриваемых нами как своеобразные геохимические константы, можно вычислить процентное содержание главных элементов в сухом беззольном ОВ природного планктона. Расчеты для фитопланктона среднего состава приводят к C = 50.0%, N = 8.8%, P = 1.2%, H = 7.4%, O = 32.6%. Или в атомном выражении C:H:O:N:P = 106:175:50:16:1, что дает брутто-формулу  $C_{106}H_{175}O_{50}N_{16}P$ . Полученные новые соотношения позволяют представить «биохимическую» формулу планктона среднего состава в виде:  $(CH_2O)_{46}(HCONH_2)_{16}(CH)_{61}H_3PO_4$  [9].

Подобные формулы, могут быть полезны для оценки отклонений состава конкретных планктонных организмов от средней величины, а также для расчета количества кислорода (свободного или связанного), требующегося на полное окисление ОВ в аэробных и/или анаэробных условиях.

Для процесса нитрификации соответствующий расчет должен основываться на стехиометрическом уравнении:



а сульфатредукции:



Базируясь на этих уравнениях, можно установить соотношение между отдельными элементами в исходном планктоне и количеством восстановленных нитратов и выделившегося молекулярного азота или, соответственно, израсходованной в процессе окисления серы сульфатов и выделившимся количеством серы сульфидов. Для органического углерода, основной составляющей ОВ, и расходуемого нитратного азота на полное окисление органического вещества планктона подобное соотношение име-

ет вид:  $N=0.92$  С (в весовых единицах) или  $N=0.79$  С (в атомах). Соответствующие соотношения по сере:  $S=1.43$  С и  $S=0.54$  С. Подобные соотношения часто используются при различного рода расчетах в океанологии [75, 164, 165].

Скорости синтеза ОВ в природных водах крайне разнообразны, от нулевых в подледные периоды до весьма высоких в короткие периоды открытой воды северных широт и высокогорных водоемов. Наибольшие ряды наблюдений (более 50 лет) по продукции и деструкции имеются для одного из двух крупнейших водоемов Волжского бассейна - Рыбинского водохранилища. Материалы 27-летних наблюдений в навигационный период (май-ноябрь) были обобщены В.И. Романенко (табл. 1).

Таблица 1. Интенсивность продукции и деструкции в Рыбинском водохранилище по многолетним данным [71].

Выражение	Фотосинтез		Деструкция ОВ	
	мкгС/(л сут)	гС/м <sup>2</sup>	мкгС/(л сут)	гС/м <sup>2</sup>
Средняя	176	86.8	127	117
Максимальная	498	166	228	214
Минимальная	74	31	69	64
Max/min	5.5	5.3	3.3	3.3

Они свидетельствуют, что скорость фотосинтеза варьирует в значительных пределах. Несколько меньше пределы варьирования интенсивности деструкционных процессов. Не было обнаружено связи между фотосинтезом и деструкцией, что вполне естественно и является прямым указанием на влияние аллохтонных поступлений ОВ. В периоды массового отмирания фитопланктона процессы разложения доминируют над процессами синтеза.

В южнее расположенных водохранилищах днепровского каскада максимальные скорости фотосинтеза выше [28].

Значительная часть новообразованных ОВ быстро подвергается разложению еще в водной массе, оставшая часть захороня-

ется в илах или трансформируется в трудно разлагаемые продукты типа гумусовых кислот. Содержание азота в гумусе почв и природных вод заметно ниже, чем в живых организмах. Это означает, что деструкция азотсодержащих компонентов сложного комплекса ОВ в водоемах происходит существенно полнее, чем других компонентов живого [19, 77]. При этом в окружающую среду выделяются неорганические формы азота, которые часто немедленно потребляются различными организмами и тем самым способствуют возобновлению цикла азота.

Более подробные сведения о масштабах и скоростях выделения азота из природных органических составляющих будут приведены ниже (См. параграф: локализация и скорость аэробной нитрификации). Лишь подчеркнем, что в процессах синтеза и деструкции ОВ образуются как гидроксиламин, так и гидразин. Последний играет особенно важную роль в качестве донора электронов в фотосистеме II, поддерживая светозависимый электронный поток в хлоропластах [132].

### **3. Фиксация молекулярного азота.**

Молекулярный азот — весьма инертен. Атомы в его молекуле связаны прочной тройной ковалентной связью, из-за чего он практически не вступает в реакции окисления-восстановления в нормальных условиях без применения катализаторов и не может использоваться подавляющим большинством растений и животных. Высокая инертность азота вызвана рядом обстоятельств:

1. молекула  $N_2$  слабый донор электронов, вследствие чего только очень сильные акцепторы в газовой фазе ( $H^+$ ,  $BF_3$ ) взаимодействуют с ней.
2. молекула  $N_2$  является плохим акцептором электронов. Поэтому только очень сильные восстановители могут принимать участие в одноэлектронном восстановлении  $N_2$  с последующим образованием нитрида.
3. в отличие от других молекул с тройной связью разрыв первой из трех связей в  $N_2$  требует наибольших затрат энергии. Поэтому реакции присоединения одного атома H или молекулы  $H_2$  к



$N_2$  сильно эндотермичны, откуда следует, что гидрирование  $N_2$  не может происходить через стадию образования диимида ( $HN=NH$ ) [82].

Несмотря на хорошо известную исключительно высокую химическую инертность молекулярного азота, уже в 1913 г. в промышленных масштабах был реализован каталитический процесс получения аммиака из атмосферного азота. Процесс проводится на гетерогенных железных катализаторах при давлении выше 300 атм и температурах 450-500 °С и осуществляется по реакции:  $N_2 + 3H_2 \rightarrow 2NH_3$ .

Новые важные страницы в химии молекулярного азота были открыты М.Е.Вольпиным, А.Е. Шиловым и их сотрудниками [26, 94, 95]. Были обнаружены реакции восстановления азота (до анилина, гидразина, аммиака) в водных или водно-спиртовых средах (в протонных средах), протекающие стехиометрически по переходному металлу при комнатной температуре и давлении азота от 1 до 150 атм. Этим открылись хорошие перспективы для вовлечения в круговорот все больших количеств инертного азота. Однако до сегодняшнего дня еще не решены проблемы эффективного использования этих реакций для промышленного синтеза азотсодержащих производных.

**3.1. Химическая фиксация молекулярного азота в природе.** Атмосферный воздух более чем на 3/4 состоит из свободного азота. В небольших количествах в воздухе присутствуют аммиак, закись и окись азота [60], которые своим происхождением обязаны грозовым разрядам, сжиганию топлива и, частично, испарениям из воды и почвы. Превращение газообразного азота в аммиак и азотную кислоту осуществляется в промышленных масштабах для производства удобрений и других технических продуктов. Приблизительная оценка объемов азотфиксации по всем направлениям показывает, что в Мире химическая фиксация азота по своим масштабам не уступает биологической [44, 92] (табл. 2).

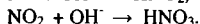
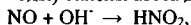
Обсуждается влияние процессов химической азотфиксации на содержание в стратосфере озона - защитного экрана от губи-

тельного ультрафиолетового излучения [160]. Несмотря на неточность прогноза, влияние все растущей промышленной фиксации азота на содержание озона в стратосфере может представлять серьезную потенциальную опасность для различных фаз глобального азотного цикла. Подчеркивается, что исследования по эффективности использования всех форм азота должны привести к определенным результатам.

Таблица 2. Химическая и биологическая фиксация азота в биосфере [44].

Источник	Примерный диапазон, млн. т N/год
<b>Биологическая фиксация</b>	
Суша	44-100
Мировой океан	1-120
<b>Химическая фиксация</b>	
Сжигание топлива	15-20
Пожары	10-200
Грозы	8-30
Промышленное производство, в том числе:	100
Удобрения	84

Значительная часть азота, образующегося при сжигании топлива, окисляется при высокой температуре с образованием оксида (NO) и диоксида (NO<sub>2</sub>) азота, которые затем поступают в атмосферу. При этом в круговорот вовлекается и атмосферный азот. Подавляющая часть оксидов азота (90-95%), образующихся в бензиновых двигателях, выделяется в форме монооксида, который далее кислородом воздуха окисляется до NO<sub>2</sub>. Соединяясь с гидроксильными радикалами (растворяясь в капельках воды) окислы азота дают азотистую и азотную кислоты:



Из кислородсодержащих соединений азота в воздухе в заметных количествах ( $5 \cdot 10^{-5}$  объемных процента) содержится и закись азота ( $N_2O$ ). В атмосфере в жестких условиях (УФ-излучение, грозовые разряды) все окислы азота в той или степени способны вступать в химическое взаимодействие с различными соединениями и образовывать более или менее восстановленные азотсодержащие продукты, в числе которых гидроксилламин и гидразин. Распространенность ГА столь высока, что он обнаруживается и в межзвездном пространстве [107]. Выпадая вместе с атмосферными осадками, окислы азота, ГА и ГН пополняют пул легко доступных организмам азотсодержащих соединений в почве и водных объектах.

В природных водах в заметных количествах содержится и молекулярный азот. Расчеты по закону Генри показывают, что при парциальном давлении 0.78 и температуре  $0^{\circ}C$  в 1 л воды растворяется 23.2 мг  $N_2$ . С повышением температуры и увеличением солености растворимость существенно падает. Процессы прямого (физико-химического) его превращения в более восстановленные или окисленные продукты в водных средах не обнаружены.

### 3.2. Биологическая азотфиксация.

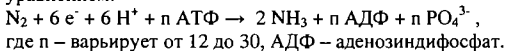
Процесс биологической фиксации азота состоит в его восстановлении водородом в момент выделения, результатом чего является образование аммиака, который затем может быть включен в структуру аминокислот. Этот процесс впервые был обнаружен Виноградским С.Н. в 1883 г. при изучении выделенной им анаэробной бактерии *Clostridium pasteurianum* [23]. Впоследствии список организмов был существенно расширен и показано, что азотфиксация осуществляется такими микроорганизмами как сине-зеленые водоросли и многие классы бактерий [51, 69, 138, 157, 193]. Особенностью азотфиксирующих цианобактерий является то, что их колонии выработали разделение функций между клетками: одни клетки занимаются только фотосинтезом и не фиксируют азот, другие занимаются только фиксаци-

ей азота и не фотосинтезируют. Побудительной причиной этого разделения функций является то, что ключевые ферменты азот-фиксации - нитрогеназы - не могут работать в присутствии кислорода, который выделяется при фотосинтезе.

Недавно было сделано важное открытие: обнаружено, что живущие в горячих источниках цианобактерии рода *Synechococcus* ухитряются совмещать в своей единственной клетке фотосинтез и фиксацию атмосферного азота - процессы, ранее считавшиеся несовместимыми. Они разделяют их во времени: днем фотосинтезируют, а ночью, когда концентрация кислорода в микробном сообществе резко падает, переключаются на азотфиксацию.

К биологической азотфиксации способны как свободно живущие микроорганизмы, так и симбиотические с высшими растениями роды *Rhizobium*, *Frankia*, *Nostoc*. Видовое разнообразие таких организмов чрезвычайно велико, они встречаются повсеместно от экватора до полярных областей – Арктики и Антарктики, как в аэробных, так и анаэробных условиях, в почве, в толще воды и донных отложениях.

В процессе фиксации принимает участие аденозинтрифосфат (АТФ), который образуется при фотосинтезе и, как следствие, данный процесс не может происходить или малоэффективен в отсутствие света (в ночное время). В то же время процесс может подавляться на ярком солнечном свете (опосредованно через фотосинтез?) и максимальные скорости фиксации в таких ситуациях отмечаются на некотором расстоянии от поверхности воды. Энергозависимый процесс фиксации азота описывают уравнением:



Способность микроорганизмов осуществлять фиксацию молекулярного азота определяется наличием комплекса ферментов, называемых нитрогеназой, состоящей из двух белковых компонентов с соотношением 1:1 (Mo – Fe – азотактивирующий белок и Fe – азотвосстанавливающий белок).

Процесс биологического превращения молекулярного азота в аммонийную форму осуществляется в несколько стадий. Часть промежуточных продуктов до сих пор остается чисто гипотетической. В продуктах восстановления доказано наличие гидроксилamina и гидразина, на основании которых предложена общая схема обсуждаемого процесса (Рис. 6). Созданный организмами богатый энергией аммиак в своей основной массе прямо ассимилируется клеткой и идет на построение их белковой составляющей, ДНК и РНК.

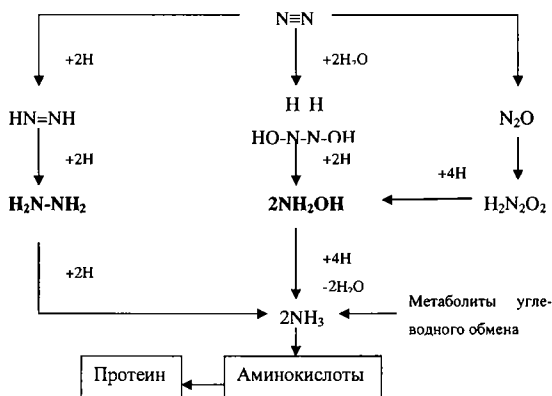


Рис. 6. Схема образования гидроксилamina и гидразина при азотфиксации [52].

Более подробно с биологией и биохимией азотфиксации можно познакомиться по серии книг под общим названием «Азотфиксация: Природа, применения и современное состояние исследо-

ваний», выпущенных издательством Springer, в которых сведены существующие к настоящему времени знания в этой важной для всего человечества отрасли. Вот названия некоторых томов: Т. 2. Генетика и регулирование азотфиксации свободно живущими бактериями [138], Т. 3. Геномы азотфиксирующих организмов [157], Т. 4. Фиксация азота и окружающая среда [193]. Многочисленные данные об организмах, осуществляющих процесс азотфиксации в природе, их распространенности, местобитаниях и др. приводятся в монографиях [51-53] и огромном числе публикаций в журналах.

Азотфиксирующие цианобактерии по всей вероятности связывают в океане в 2-3 раза больше атмосферного азота, чем считалось ранее. К такому выводу пришли сотрудники Океанографического института в Вудс-Хоуле, применив принципиально новый подход к оценке численности морского фитопланктона. Численность колоний *Trichodesmium* - самых массовых азотфиксаторов тропических и субтропических районов Мирового океана оказалась значительно выше той, что была рассчитана на основе традиционного анализа планктонных проб [29, 119, 139]. Это заставляет по-новому взглянуть на соотношение химической и биологической азотфиксации и их роли в глобальном круговороте азота.

#### **4. Нитрификация.**

Нитрификация – процесс окисления восстановленных неорганических соединений азота (аммиака, гидроксилamina, гидразина, и др.) до нитритов и нитратов. Процесс проходит с выделением значительного количества энергии (см. ниже), вследствие чего эта реакция может осуществляться при наличии различных активаторов – световых, химических, биологических.

##### **4.1. Физико-химическая нитрификация.**

При фотохимическом окислении аммиака под действием ультрафиолетовых лучей в жестких экспериментальных условиях в результате 2-х часового облучения из 970 мг исходного ам-

миачного азота исчезло 370 мг, из которых 270 мг превратилось в нитриты [163]. По мнению С.И. Кузнецова [52] «существенного значения в круговороте азота в озерах процесс фотохимической нитрификации иметь не может. Вследствие очень интенсивного поглощения ультрафиолетовых лучей водой процесс окисления аммиака может происходить лишь в очень тонком слое жидкости, порядка 2-10 см толщиной и едва ли это может сказаться на окислении аммиака в озерах глубиной в несколько метров». Он же отмечает, что химических активаторов нитрификации для условий водной среды не найдено. Однако эти замечания относятся лишь к одной единственной – аммонийной форме азота. Вследствие большей, по сравнению с аммиаком, реакционной способности нитритов, гидразина, гидроксилamina процессы химической и физико-химической (световой) нитрификации, возможно, могут быть значимыми в круговороте азота в водоемах, особенно мелководных. Продемонстрировано, что нитриты быстро исчезают в водных растворах Fe (III) с pH=3.2 как на солнечном свете, так и при 356нм. При высокой концентрации  $\text{NO}_2^-$  относительно Fe (III) гидролиз  $\text{NO}_2^-$  или  $\text{N}_2\text{O}_4$  с образованием  $[\text{NO}_2]$  и  $[\text{NO}_3]$  может быть значительным [198]. Это исследование дает возможность предположить, что индуцированное светом и Fe(III) окисление  $\text{NO}_2^-$  может быть потенциально важным путем, ответственным за быструю трансформацию  $\text{NO}_2^-$  в кислых поверхностных водах, особенно таких, на которые оказывают влияние вулканическая активность или стоки шахтных вод. Эта работа может также представлять интерес при моделировании взаимодействия кислых осадков с окружающей средой.

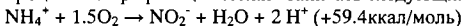
#### **4.2. Биологическая нитрификация в аэробных условиях.**

Наиболее изученными являются процессы биологического окисления аммиака и нитритов. Наличие в природных водах свободного аммиака и солей аммония, находящихся в подвижном равновесии, определяется многими факторами. Их основными источниками являются атмосферные осадки, грунтовые,

промышленные и бытовые сточные воды, поступление с водосборной площади, выделение из донных отложений и аммонификация органических азотсодержащих компонентов, в том числе отмирающих организмов всех трофических уровней.

#### 4.2.1 Автотрофная нитрификация.

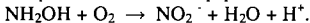
Первую фазу - окисление солей аммония до солей азотистой кислоты (нитритов) - осуществляют аммонийоксиляющие бактерии родов *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus* и др. Наиболее простую (без промежуточных продуктов) схему этой стадии процесса нитрификации можно записать следующим образом:



Вначале происходит поглощение  $\text{NH}_4^+$  и перенос его через цитоплазматическую мембрану (ЦПМ) с помощью медьсодержащего фермента - транслоказы [35, 72]. Предполагается, что на первом этапе аммиак окисляется до гидроксиламина с помощью монооксигеназы, катализирующей присоединение к молекуле аммиака одного атома кислорода; второй атом  $\text{O}_2$  взаимодействует, вероятно, с НАД- $\text{H}_2$ , что приводит к образованию  $\text{H}_2\text{O}$ :



Гидроксиламин далее ферментативно окисляется до нитрита:



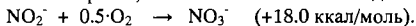
При окислении аммиака до нитрита атом азота теряет 6 электронов.

В почвах сельскохозяйственных угодий важными нитрификаторами являются виды рода *Nitrosolobus*, а не *Nitrosomonas*, как считалось ранее. Для природных вод этот вопрос остается открытым.

Бактерии, окисляющие аммиак, поставляют субстрат для бактерий, осуществляющих вторую фазу нитрификации - окисление нитритов до нитратов. Кроме того, в природных водах присутствуют нитриты и другого генезиса, главным образом попадающие сюда из различных внешних источников и выделяемые рядом водорослей.



Вторую фазу процесса осуществляют нитритоксилирующие бактерии, относящиеся к родам *Nitrobacter*, *Nitrosococcus* и др. В общем виде реакция окисления нитритов до наиболее окисленной формы азота – нитратов, может быть записана в виде:



Эта стадия нитрификации сопровождается потерей 2 электронов. Окисление нитрита до нитрата, катализируемое молибден-содержащим ферментом нитритоксидазой, локализовано на внутренней стороне ЦПМ и происходит следующим образом [35]:



При автотрофной нитрификации, процесс окисления аммиака, гидросиламина и других восстановленных соединений азота используется бактериями для удовлетворения энергетических нужд.

Рост и метаболизм автотрофных нитрифицирующих бактерий протекает оптимально в очень узкой области pH (7 – 8 единиц). Это связано с тем, что и свободный аммиак (при высоких значениях pH), и азотная кислота (при низких pH) оказывают токсическое действие на *Nitrobacter* и другие бактерии цикла нитрификации.

«Автотрофные бактерии, окисляющие аммиак, нитрит, соединения серы или железо, находятся в энергетическом отношении в крайне невыгодных условиях. Их субстраты обладают сильно положительным окислительно-восстановительным потенциалом. Нормальные потенциалы  $E_0'$  составляют для  $\text{NH}_4^+/\text{NH}_2\text{OH}$  +899 мВ, для  $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$  + 420 мВ, для  $\text{NO}_2^-/\text{NH}_2\text{OH}$  +66 мВ, в то время как для пары  $\text{NAD}/\text{NAD-H}_2$  окислительно-восстановительный потенциал равен - 320 мВ. Окисление названных выше неорганических субстратов не может быть прямо связано с восстановлением NAD. Однако NAD-H<sub>2</sub> необходим для восстановления CO<sub>2</sub> в рибулозобисфосфатном цикле...Низкий выход клеток у бактерий, окисляющих упомянутые выше неорганические субстраты, обусловлен тем, что они получают таким способом мало энергии. Для синтеза одного грамма

сухой клеточной массы им приходится использовать гораздо большие количества различных веществ, чем другим организмам. Кроме того, большинство названных бактерий катализирует так называемое «холодное окисление», т.е. окисление субстратов без одновременного синтеза клеточного вещества. Неудивительно поэтому, что различные превращения в почве и воде осуществляются сравнительно малым количеством бактерий» [35].

Наблюдения за интенсивностью нитрификационных процессов в поверхностных водах загрязненного азотом урбанизированного озера Onondaga Lake, NY в течение 8-ми лет (1988—1995 гг.) показали, что скорости нитрификации за различные годы изменялись от почти нулевой во время полного перемешивания (1994 г.) до в среднем около 0.18/день в течение одного месяца (1995 г.). Нитрификационные события были причиной основных внутригодовых вариаций, наблюдаемых в содержаниях аммония и окисленных форм азота. Они же были ответственны за особенно резкие снижения растворенного кислорода, наблюдаемые в определенные годы в течение этого интервала [125].

И.Н. Крыловой проведено обобщение материалов по нитрификации и денитрификации в озерах различного типа [47]. Они показывают, что интенсивность процесса в общем случае не сильно зависит от типа озерной экосистемы (Табл. 3).

#### **4.2.2. Гетеротрофная нитрификация.**

Автотрофные нитрификаторы не занимают монопольного положения в процессах нитрификации. Существуют микроорганизмы, также способные переводить многие восстановленные неорганические соединения азота в конечные продукты – нитриты и нитраты, но при этом обычно не получающие энергию. К такого рода организмам относятся гетеротрофные бактерии, принадлежащие родам *Arthrobacter*, *Flavobacterium*, *Xanthomonas*, *Pseudomonas* и др., встречающиеся во многих типах природных вод [31, 52, 130]. Изучение механизма

Таблица 3. Нитрификация и денитрификация в воде и грунтах озер разного типа (МЭ - мезозвтрофные, Э – эвтрофные, МО – мезоолиготрофные, М – мезотрофные) [47].

Трофность	Аммоний-окисляющие	Нитрит-окисляющие	Денитрифицирующие	Нитрификация	Денитрификация
	тыс. кл./мл			мгN/ (л сутки)	
Вода					
Проточные и голомиктические водоемы					
МЭ	0.001-0.01	0.001-0.1	0	0-18	0
Димиктические водоемы					
Э	0.001-0.01	0.001-0.01	0.8-9.6	0-32	0
М	0.001-0.01	0.001-1.0	0.2-1.2	3.9-11.6	0-2.3
МО	0.001-0.1	0.001-0.01	0.05-10	2.7-17.3	0
Донные отложения					
Проточные и голомиктические водоемы					
МЭ	0.01-1000	0.001-1000	0-250	0.4-50.7	0-1.5
Димиктические водоемы					
Э	-	-	-	0	0
М	0.01-10	0.1-10	32-200	0-4.3	0-0.003
МО	0.01-10	0.1-10	1-100	0.7-4.2	0.004-0.02

гетеротрофной нитрификации показало, что, возможно, он связан с разрушением образуемой бактериальными культурами перекиси водорода с помощью пероксидазы. Образующийся при этом активный кислород окисляет  $\text{NH}_3$  до  $\text{NO}_2^-$  [35].

Было обнаружено, что многие денитрифицирующие бактерии способны осуществлять гетеротрофную нитрификацию [117]. При определенных физико-химических условиях к нитрификации способны и метаноокисляющие бактерии [58], что в значи-

тельной степени связано с подобием пространственной структуры метана и аммонийного иона ( $\text{CH}_4$  и  $\text{NH}_4^+$ ).

Гетеротрофный процесс в отличие от автотрофного не связан с ростом клеток и продукцией биомассы. Скорость нитрификации у гетеротрофных бактерий обычно на два порядка меньше, чем у автотрофных. Ранее изучение аксеничных культур нитрифицирующего штамма *Agtrobacter* показало, что этот гетеротрофный организм выделяет в окружающую среду гидроксилламин, гидроксамовую кислоту, нитрит, нитрат и соединение, идентифицированное в первом приближении как 1-нитрозозэтанол. На основе этих наблюдений был поставлен вопрос о том, может ли иметь место тот же самый вид нитрификации в природе. Для решения этой задачи были взяты образцы почв, природных и бытовых сточных вод из различных источников. Пробы обогащались ацетатом натрия и сульфатом аммония до концентрации 3.0 г С/л и 1.0 г N/л и инкубировались при 28 °С. Состав и характер поведения продуктов трансформации азотсодержащих соединений был таким же, как и в аксеничных культурах. Из 20-ти испытанных проб различных объектов далеко не все были способны поддерживать гетеротрофную нитрификацию с образованием ГА (Табл. 4).

Таблица 4. Нитрификация в образцах природных экосистем, обогащенных аммонием и ацетатом [187].

Источник образца	Общее число испытанных проб	Число проб, поддерживающих гетеротрофную нитрификацию
Почва	4	0
Почвенная суспензия	4	3
Сточная вода	4	2
Речная вода	4	1
Озерная вода	4	1

Максимальные концентрации продуктов в расчете на азот достигали: 1.15 мг гидроксиламина, 0.3 мг 1-нитрозоэтанола, 1.4 мг нитритов и 0.5 мг нитратов в литре пробы. Инактивация ГА в почвенных образцах и пробах сточных вод проходила быстро. В речной воде ГА появлялся на 7-ой день инкубации, достигал максимума (3.1 мг N/л) к 12-суткам, и полностью исчезал на 22-ой день. К концу эксперимента было обнаружено 3.2 мг N/л 1-нитрозоэтанола, оказавшегося очень устойчивым в водных растворах, но быстро исчезающего из почвенных образцов. Таким образом, в целом было показано, что при подходящих значениях pH (нейтральная или щелочная среда), наличии и достаточности источников углерода и азота гетеротрофная нитрификация может иметь место в реках и озерах. При этом образуются нитриты, гидроксиламин, 1-нитрозоэтанол – продукты опасные для человека и животных даже при относительно малых концентрациях, поэтому их присутствие в природной среде должно тщательно контролироваться.

#### **4.3. Локализация и скорость аэробной нитрификации.**

Широкие экологические исследования позволили выявить основные закономерности распространения различных групп нитрифицирующих бактерий в водоемах и, прежде всего, в озерах и водохранилищах. Оказалось, что в водной массе озер всех типов аммонийоокисляющие бактерии обычно немногочисленны (1-10 клеток/мл), тогда как в стратифицированных озерах мезотрофного и эвтрофного типов их гораздо больше – до 4млн. клеток/мл метилотрофных бактерий и до 1000 клеток/мл нитритоокисляющих [53]. Многие нитрификаторы имеют физиологические и морфологические особенности, способствующие приспособлению к смене экологической обстановки. В отсутствие загрязнения, они, как правило, развиваются совместно с бактериями, жизнедеятельность которых приводит к образованию исходного субстрата нитрификации – аммонийной формы азота.

Нитрифицирующие бактерии обнаружены и в самых разнообразных почвах и водотоках [101]. Нитрификация идет даже в

навозе, на границе между анаэробной и аэробной зонами. Известно, что при компостировании навоза на его поверхности образуется селитра, которую в средние века использовали для приготовления пороха.

Исторически первым на пути установления мест локализации нитрификации в водоемах был метод определения «нитрификационной способности воды». Для этого в пробы воды объемом 50 мл, отобранные с различных глубин, добавляли примерно по 100 мл фосфорноаммонийномagneзиевой соли и через 2-3 недели определяли количество образовавшихся нитритов и нитратов за счет окисления иона аммония нитрифицирующими бактериями в испытуемом образце воды. Аналогичные опыты проводились и с образцами донных отложений. Исследования на ряде озер и водохранилищ показали, что наиболее высокая «нитрификационная способность» наблюдается летом в придонных слоях воды и на поверхности иловых отложений вследствие постоянно выделяющегося из донных отложений аммиака в результате процессов аммонификации, который, попадая в окислительную среду, тотчас подвергается нитрификации [31, 52, 53]. Такой подход дает указания на различия в обилии нитрифицирующих бактерий в определенных слоях воды и ила или на мощность источников аммония, но не дает истинного представления о скоростях процессов *in situ*. Более того, экспериментам с биогенным обогащением присущ ряд методических проблем. Например, добавление биогенных элементов может приводить к изменениям химического состава воды, pH среды, и тем самым прямо или косвенно к искажению всего хода процесса.

По-видимому, наиболее простым приемом установления мест локализации нитрификации в водоеме может служить одновременный анализ основных неорганических форм азота (аммония, нитритов, нитратов) в пробах воды. Наличие повышенных концентраций нитритов и нитратов на определенных горизонтах водной толщи служит прямым указанием на развитие соответствующего процесса.

Была измерена потенциальная способность природной воды к осуществлению нитрификационных процессов [17], которая одновременно может дать представление о вероятных зонах сосредоточения аммонийоокисляющих микроорганизмов.

Схема проведения экспериментов выглядит следующим образом. Отобранные пробы воды без какой-либо предварительной обработки и без добавок помещают в склянки из темного стекла и на 30 сут ставят в темное помещение, в котором поддерживают температуру  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ . Для предотвращения возможного возникновения анаэробных условий склянки ежедневно насыщают воздухом.

При исследовании кинетики процесса выявлено, что он полностью завершается менее чем за 30 суток (Рис. 7). Проверка, проведенная нами на многих типах вод, показала, что в принятых экспериментальных условиях процесс следует по пути, уже ставшему каноническим. Биохимическая деструкция аммония, имеющегося в микрокосмах в начальной фазе опыта и постоянно пополняющегося за счет деструкции природных азотсодержащих органических соединений, сопровождается сначала образованием гидроксилamina, затем  $\text{NO}_2^-$ , а на завершающем этапе накоплением  $\text{NO}_3^-$ . Появление пика на кинетической кривой, очевидно, есть следствие превышения скорости образования ГА над скоростью его разрушения. Этот опыт показывает, что реакционная способность свободного ГА (биохимическая и/или химическая) очень высока, поэтому содержание его не может превысить микрограммовых количеств.

Через 2-3 недели (максимум 25 сут) экспозиции кривые накопления конечного продукта – нитратов – выходят на плато свидетельствуя о сильном замедлении и практическом завершении биохимических процессов преобразования соединений азота. Месячный срок экспозиции достаточен и для полной деструкции лабильной фракции органических веществ (установления полного БПК) [1, 16, 76] и завершения фосфатофикации [17, 76] в самых разнообразных водных объектах, что позволяет

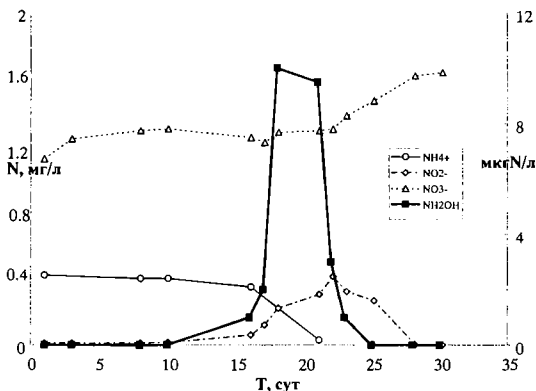


Рис. 7. Кинетика аэробной нитрификации пробы воды Рыбинского водохранилища в экспериментальных условиях (отсутствие света, температура  $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ , N – в мг/л).

ограничить длительность экспериментов по определению потенциальных масштабов нитрификации месячной экспозицией. Кроме того, многочисленные факты свидетельствуют о том, что общий характер внутригодовых изменений основных неорганических форм азота (рис. 7) в природных водах хорошо укладывается в приведенную схему.

В оз. Плещеево летом, в период массового развития фитопланктонных организмов, неорганические формы азота практически полностью потребляются на построение вещества клеток (рис. 8). В растворенном состоянии в небольших количествах обнаруживаются только ионы аммония (до  $0.04 \text{ мгN/л}$ ), по всей вероятности обусловленные установлением динамического равновесия между процессами аммонификации и синтезом



аминокислот.

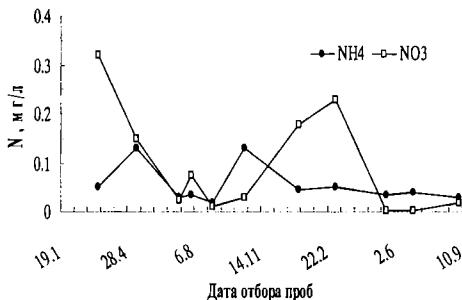


Рис. 8. Внутригодовая динамика аммонийного и нитратного азота в поверхностной воде оз. Плещеево в 1984-1985 гг.

Осенью, в связи с резким понижением температуры воды, происходит массовое отмирание водорослей. Мертвый азотсодержащий органический материал сразу подвергается бактериальной атаке с выделением в окружающую среду аммония. Последний, из-за неблагоприятных погодных условий, не может в ощутимых размерах повторно вовлекаться в фотосинтез, и потому остается в воде. Появление значительных количеств аммонийного азота зафиксировано в воде оз. Плещеево в октябре 1984 г. Окисление обладающего большим энергетическим запасом аммиака организмами-нитрификаторами, вероятно, начинается еще во время интенсификации процесса аммонификации, но в заметных масштабах нитраты в обсуждаемом водоеме были зафиксированы через 30 сут после начала аммонификации. Очевидно, на скорость процесса существенное влияние оказывают низкие осенние температуры. В дальнейшем скорость нитрификации постоянно превышала скорость выделе-

ния аммонийного азота, и с января до конца ледостава в воде обнаруживались почти исключительно нитратная и органическая формы азота. Содержание аммонийного азота в течение зимы было очень низким, близким к его летним значениям.

Непосредственно после ледостава создаются благоприятные условия для развития диатомовых водорослей, которые начинают интенсивно использовать нитратную и другие неорганические формы азота, поступающие в озеро с паводочными водами весной. К июню их запасы исчерпываются, и цикл замыкается.

Таким образом, можно с уверенностью сказать, что и направленность процессов трансформации азотсодержащих ОБ и степень их деструкции в экспериментальном микрокосме согласуются с природными явлениями. Такой подход позволяет получить данные не только о вероятном распределении численности аммонийоокисляющих бактерий в конкретном водоеме, но и ряд других важных в экологии параметров, в частности, значения регенерационных потенциалов.

Например, соответствующие эксперименты, проведенные с пробами натуральной воды, отобранной с различных участков Рыбинского водохранилища, показывают, что в принятых за стандартные условиях (отсутствие света, температура 20<sup>0</sup>С, 30 сут экспозиция) способны подвергаться нитрификации весь исходный аммонийный и от 8 до 22 % органического азота. Эти лабильные компоненты органических азотсодержащих соединений составляют потенциальный источник N для развития первичных продуцентов. В натурных условиях они способны к относительно легкой регенерации и при недостатке в среде минеральных форм поддерживать жизнедеятельность биоты. Поэтому эта доля может быть названа регенерационным потенциалом природных вод по азоту (RPN).

$$RPN = N_k - N_n ,$$

где  $N_k$  и  $N_n$  - соответственно сумма конечных и начальных концентраций минеральных форм азота.

Из этого простейшего балансового уравнения следует, что получающееся в конце экспозиции при заданных фиксированных

условиях эксперимента значение легко аналитически определяемого параметра  $N_k$ , представляет сумму исходного и способного дополнительно выделяться в результате биохимической трансформации ОВ концентраций  $N_{мин}$ . Получающаяся в экспериментах с образцами природных вод из водоемов с установившимся водным и химическим режимом значение  $N_k$  должно быть близким к ранневесенним концентрациям  $N_{мин}$ , которые только и определяют последующий уровень развития первичных продуцентов. Поэтому именно  $N_k$  может и должна играть роль базовой при установлении трофического статуса водоемов по азоту. Для водоемов, лимитированных по фосфору, подходы могут быть аналогичными. Только вместо  $N$  нужно рассматривать соединения  $P$ .

Полученные значения RPN будут определять потенциальные возможности природных ОВ к пополнению водных масс биологически доступной формой азота. По ним также можно провести оценку верхних пределов развития фитопланктона в водоеме, а также отнести водоем к тому или иному классу в соответствии с трофической классификацией. В частности было показано, что летом в различных водных массах Рыбинского водохранилища  $RPN = 0.04 - 0.14$  мг  $N/л$  [17]. Опираясь на эти значения и соотношение Редфилда для ОВ фитопланктона ( $C:N:P = 106:16:1$  [9, 152]), можно оценить биомассу первичных продуцентов, которая может синтезироваться из этого количества  $N$ , т.е. исключительно за счет регенерационного потенциала. Соответствующие расчеты показывают, что RPN может способствовать созданию до 1 мгС/л сухой (без учета зольности) или до 15 мг/л сырой биомассы, что заметно превышает среднее значение биомассы фитопланктона Рыбинского водохранилища [73].

Большая группа авторитетных лимнологов из 18 стран, в течение многих лет работавшая при содействии Организации экономического развития и кооперации по единой Международной программе по мониторингу внутренних вод и контролю эвтрофирования водоемов в качестве фиксированной границы перехода водоема из мезотрофного состояния в эвтрофное (при ис-

пользовании фиксированных границ) рекомендовала концентрацию  $\text{Нобщ} < 0.3 \text{ мг N/л}$  [92].

В Рыбинском водохранилище концентрация  $\text{Нобщ}$  в 1965 г. во все сезоны была выше  $0.8 \text{ мг N/л}$  [73]. Летом 1997 г. она составляла  $0.61\text{--}0.78 \text{ мг N/л}$  [17]. Во всех случаях она в 2 раза и более превышала значение, допустимое для мезотрофного водоема. Сумма RPN и содержания неорганических форм этого элемента в исходной воде  $< 0.25 \text{ мг N/л}$ . Следовательно, Рыбинское водохранилище попадает в класс мезотрофных водоемов только при условии, что рекомендованное международным сообществом значение верхней границы мезотрофии относится не к  $\text{Нобщ}$ , а  $\text{Нмин}$  с учетом RPN. В таком случае оценки трофности водоема по N и P будут совпадать.

Поскольку трофность водоема - важная характеристика при выборе путей оздоровления (профилактические меры, реставрация, реконструкция), то значительные расхождения в оценках рассматриваемого параметра могут привести к неоправданным издержкам или излишнему оптимизму при планировании конкретных хозяйственных мероприятий на их акваториях и водосборах. Чтобы не допустить подобных ситуаций предлагается в качестве меры трофии водоема использовать среднегодовые данные по сумме минеральных компонентов и RPN и (или) RPP, где RPP – регенерационный потенциал по фосфору.

Для определения **интенсивности процессов нитрификации** был предложен ряд методов. С применением трудоемких методов масс-спектрометрического анализа соотношения добавленных в пробу стабильных изотопов  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$  было показано, что летом (июль) в нижней части гипolimниона оз. Кизаки (Япония) в слое 18–20 м аммоний почти стехиометрически окислялся до нитритов [180]. Максимальная скорость достигалась в нижней части микроаэрофильной зоны на глубине 20 м и составляла  $21 \text{ мкг N/л сут.}$  Интенсивность второй фазы нитрификации оказалась выше скорости окисления аммония до нитритов.

Широкое распространение получили методы, основанные на применении ингибиторов одной из фаз или всего процесса нит-

рификации. В качестве ингибиторов использовались хлорат калия, тиомочевина, нитрапирин и др. С применением нитрапирина {(2-хлор-6 (трихлорметил) пиридин), коммерческое название N-serve} проведены многочисленные исследования и получены данные, позволяющие в первом приближении судить об истинных скоростях нитрификации *in situ*. Однако и ингибиторный анализ не дает полного представления об активности окисления аммония в природных условиях [129]. Необходимо иметь в виду, что тиомочевина не подавляет нитрификацию, осуществляемую гетеротрофами. Для подавления нитрификации хлоратами требуется введение больших количеств этого вещества, что искажает естественные условия. Нитрапирин эффективно ингибирует поглощение  $\text{CO}_2$  не только нитрификаторами, но и метанокисляющими и сульфатредуцирующими бактериями. Ингибиторным методам присущ еще ряд недостатков [53, 74, 85, 171].

Н.А. Трифионовой была предпринята попытка оценить скорости нитрификации по кинетике процесса при добавлении в пробы воды хлористого аммония до концентраций от 0 до 2 мг N/л и экспонировании в течение 12-24 часов опытных склянок в водоеме на глубине 1 м или в аквариуме при той же температуре [85]. После экспозиции в пробах определяли концентрацию нитрита. Обработка полученных данных в предположении подчинения скоростей процесса кинетике ферментных реакций дает возможность определить максимальную скорость и константу половинного насыщения, а затем рассчитать скорость нитрификации в водоеме по формуле  $V = V_m S / (K_m + S)$ , где  $V_m$  - максимальная скорость при насыщении фермента субстратом,  $S$  - концентрация субстрата,  $K_m$  - константа Михаэлиса, численно равная концентрации субстрата. Полученные результаты свидетельствуют о невысокой интенсивности нитрификации в воде водохранилищ Верхней Волги, хотя потенциальные скорости на порядки выше (табл. 5). Сравнение этих материалов с имеющимися данными для некоторых из перечисленных выше водохранилищ, полученными методом с применением нитрапирина в

Таблица 5. Скорости нитрификации в воде верхневолжских водохранилищ [85].

Место отбора	Дата	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Нобщ	V <sub>т</sub>	V
		мкгN/л				мкгN/(л сут)	
Иваньковское							
Шошинский плес	27.07	160	17	130	1480	15.4	0.48
	30.07	60	8	60	1410	25.4	0.34
	18.10	60	1	160	1240	10.1	0.05
Угличское							
Выше плотины	22.07	260	19	400	1520	5.8	0.43
Р. Нерль	24.07	130	14	350	1760	5.5	0.22
Горьковское							
Нижне г. Рыбинска	20.05	10	5	740	1320	4.6	0.04
Нижне г. Кострома	23.05	10	5	510	1310	5.3	0.02
У г. Чкаловск	27.05	20	4	260	870	0.8	0.01

качестве ингибитора нитрификации, показало, что скорости, определенные кинетическим методом, в целом ниже. Н.А. Трифоновой отмечается, что при реальных скоростях нитрификации на окисление содержащегося в воде аммония расходуется не более 1% суточного потребления кислорода и лишь при реализации потенциальной возможности процесса, т.е. при резком увеличении в воде аммонийного азота, расход кислорода может достичь 10-30% от суточного БПК. По другим оценкам из общего БПК около 1/3 расходуется в процессе нитрификации [188]. Такого же порядка и даже более высокие (до 70%) величины расхода кислорода на окисление азота получены нами для ряда озер в осенний период, когда с резким падением температуры интенсифицируются процессы аммонификации и вслед за ними нитрификации.

По всей вероятности, кинетический метод, основанный на универсальном подходе к определению истинных скоростей

многих процессов в водоемах, предложенном Райтом и Хобби [197], является одним из самых надежных приемов установления интенсивности нитрификации в водоемах.

Здесь важно подчеркнуть, что при работах подобного рода, да и не только, необходимо иметь в арсенале надежные методы идентификации и определения весьма малых концентраций самых разнообразных форм азота, подобные изложенным в оригинальных работах [12, 14, 27, 84, 196].

#### **4.4. Анаэробная нитрификация.**

До недавнего времени считалось, что нитрификация может иметь место лишь в присутствии молекулярного кислорода. Очень характерно в этом отношении высказывание выдающегося водного микробиолога С.И. Кузнецова: «Обнаружение нитрифицирующих бактерий в поверхностном слое ила в наиболее глубокой части оз. Белого представляет большой интерес в связи с тем, что здесь почти круглый год, за исключением периода полной осенней циркуляции воды, наблюдаются анаэробные условия. Трудно допустить, чтобы в этих условиях шла нитрификация, и всего вероятнее, нитрифицирующие бактерии попадают в поверхностный слой ила, оседая из водной массы на частицах детрита» [52].

В 1995 г. голландские исследователи открыли процесс анаэробного окисления аммония, названный ими Анамтох (anaerobic ammonium oxidation) процессом [151, 183]. Этот процесс сразу привлек внимание большого числа естествоиспытателей и быстро подвергся тщательным и интенсивным исследованиям. За пять прошедших лет со дня первой публикации были открыты новые пути превращения аммония в почвенных и водных системах, результаты которых обобщены М. Джеттеном [135]. Основываясь на экспериментах с использованием стабильного изотопа азота  $^{15}\text{N}$ , был постулирован следующий механизм анаэробного окисления аммония: бактерия, осуществляющая процесс, вначале восстанавливает нитрит до гидросиламина. Затем ГА и аммонийный ион конденсируются до

гидразина и воды. В конце ГН окисляется до молекулярного азота и атомарного водорода и водород используется для восстановления следующей молекулы нитрита.

Недавно были идентифицированы два пресноводных *Candidatus Brocadia anammoxidans* и *Candidatus Kuenenia stuttgartiensis* и один морской *Candidatus Scalindua sorokinii* виды бактерий, способных окислять аммоний в анаэробных условиях. *Candidatus Scalindua sorokinii*, открытый в Черном море, в значительной мере способствует потере фиксированного азота из водоема. Все три вида в своей цитоплазме имеют уникальные органеллы - аннамоксозомы. Эти органеллы содержат гидразин/гидроксиламин оксидоредуктазы и тем самым узлы, где может происходить Анаммокс-процесс. В природных и искусственных экосистемах эти бактерии могут кооперироваться с аэробными аммонийо-кисляющими бактериями, которые предохраняют их от губительного кислорода и запасают необходимый нитрит. Кооперация этих двух групп аммонийокисляющих бактерий является микробиологической основой для создания реакторных систем для удаления аммония из сильно загрязненных сточных вод [136].

Вследствие схожести строения ионов аммония и метана можно было предполагать, что в анаэробных условиях может происходить и окисление  $\text{CH}_4$ . Действительно, этой же группой голландских исследователей в донных отложениях водоемов были обнаружены неизвестные ранее бактерии, способные окислять метан, восстанавливая при этом нитраты и нитриты и выделяя во внешнюю среду молекулярный азот. Причем выяснилось, что участвуют в этом процессе представители двух совершенно разных групп - архебактерии и «настоящие» бактерии, или эубактерии.

Кратко затронутые здесь процессы могут иметь место в основном в водоемах, в которых возможно образование анаэробных зон или в анаэробных илах. Однако необходимо иметь в виду, что донные отложения многих водоемов в течение длительного времени находятся в аноксичных условиях, да и самих во-



доемов, имеющих анаэробный гипополлимнион, на планете немало. Поэтому процессы анаэробного окисления аммония и метана могут внести существенные коррективы в наши представления о круговороте азота и углерода.

Полный список публикаций по рассматриваемой проблеме, охватывающий период с 1996 по 2006 гг. и состоящий из более чем ста наименований, можно найти на сайте Марка Струса.

## 5. Денитрификация.

Растворенный в водной массе нитрат может быть использован для двух целей.

1. Фитопланктонные организмы, макрофиты и многие бактерии способны извлекать из него азот для синтеза азотсодержащих клеточных компонентов в процессе так называемой *ассимиляционной нитратредукции*, которая может протекать как в аэробных, так и в анаэробных условиях.

2. При недостатке кислорода и наличии безазотистых органических веществ (крахмал, клетчатка и даже метан) имеет место *диссимиляционная нитратредукция* (нитратное дыхание); при этом нитрат в анаэробных условиях служит конечным акцептором водорода. Диссимиляционная денитрификация - сумма микробиологических процессов восстановления нитратов до нитритов и далее до газообразных оксидов и молекулярного азота. В результате значительная часть азота нитратов возвращается в атмосферу и становится недоступной большинству организмов.

В обоих случаях нитрат сначала восстанавливается до нитрита с помощью молибденсодержащего фермента нитратредуктазы.

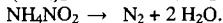
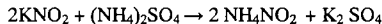
Ассимиляционная нитратредукция осуществляется в несколько этапов; нитрат сначала восстанавливается до нитрита, а затем до аммиака и уже последний используется для синтеза аминокислот и других азотсодержащих компонентов клетки. Ассимиляция нитрата представляет собой процесс восстановления, протекающий с большими затратами энергии, чем ассимиляция аммония (для производства одной и той же биомассы).

Этот процесс играет огромную роль в круговороте азота, но количественные оценки еще далеки от совершенства. Ассимиляционная нитратредукция в существенной мере связана со сложными процессами фотосинтеза, поэтому разностороннее рассмотрение таких процессов является прерогативой науки о фотосинтезе.

Процессом, направленным на уменьшение связанного азота в почвах и природных водах, является диссимиляционная денитрификация, протекающая при недостатке кислорода и наличии безазотистых веществ (крахмал, клетчатка и даже метан), на окисление которых расходуется кислород нитратов. При этом азот выделяется в газообразных формах и большей частью покидает материнский объект. Далее для краткости под денитрификацией мы будем иметь в виду именно диссимиляционную денитрификацию. Она представляет собой аналог процесса дыхания организмов, в котором вместо обычного молекулярного кислорода для окисления веществ (как органических, так и минеральных) используется нитрат или продукты частичного его восстановления. Многие денитрификаторы могут расти, используя в качестве акцептора водорода не только нитрат, но и нитрит, и даже закись азота. Такое бескислородное дыхание свойственно многим видам организмов, причем в качестве акцепторов водорода могут использоваться не только нитраты, но и многие кислородсодержащие соединения других элементов – серы, селена и т.п. В частности, зараженные сероводородом огромные анаэробные зоны большинства природных водоемов, даже таких крупных как Черное море, своим происхождением обязаны работе бактерий, которые для дыхания используют кислород, входящий в состав сульфатов. Денитрификация – процесс анаэробный и подавляется молекулярным кислородом. Процесс нитратного дыхания происходит с выделением энергии; эффективность процесса при восстановлении нитратов до молекулярного азота составляет около 70% от аэробного дыхания с использованием кислорода. Истинные денитрификаторы, организмы, способные проводить процесс до конца, являются факультативными ана-

эробами, которые при наличии молекулярного кислорода переключаются на обычное дыхание.

Многие сапрофитные бактерии способны восстанавливать нитраты только до нитритов. Если в окружающей среде одновременно с нитритами присутствуют аммонийные соли или аминокислоты, то свободный азот может в этом случае выделяться за счет их химического взаимодействия



Этот процесс называется косвенной денитрификацией [52].

Первую же стадию трансформации нитратов (перевод в нитриты) способны осуществлять не только бактерии, но и водоросли, грибы, дрожжи. Для целого ряда факультативно-анаэробных бактерий нитрат может служить конечным акцептором водорода в процессе транспорта электронов. При этом нитрит может накапливаться в культуральной жидкости - образования газообразных продуктов типа  $\text{N}_2$  или  $\text{N}_2\text{O}$  не происходит. Поэтому этот вид «нитратного дыхания» следует отличать от истинной денитрификации. Многие денитрификаторы обладают способностью к азотфиксации.

Далеко не все известно об организмах не только способных осуществлять денитрификацию в лабораторных условиях, но и действительно работающих в природе. До сих пор поступают сообщения об открытии все новых видов бактерий. В 2000 г. из водной колонки Готландской впадины Балтийского моря, главного аноксичного резервуара Центральной Балтики, было выделено 76 гетеротрофных денитрифицирующих штаммов. Основная часть генотипов была ранее неизвестной, и авторы полагают, что это новые виды, а возможно и роды. Они встречались на всех глубинах, но наибольшим разнообразием и плотностью обладали образцы, взятые из микроаэрофильной зоны, в слое, где наблюдалась наивысшая для данного региона интенсивность денитрификации [109].

Хотя реакцию денитрификации часто представляют довольно простыми уравнениями, установлено, что они намного более

сложны и могут включать образование различных промежуточных соединений, в том числе гидросиламин (рис. 9).

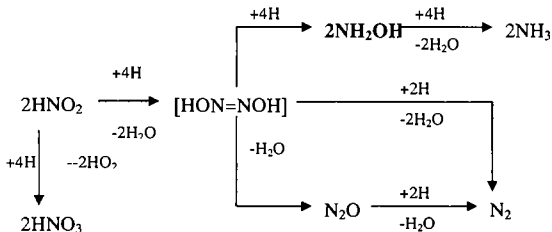
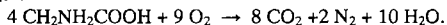


Рис. 9. Схема образования гидросиламина при денитрификации [52].

Сведения по скоростям денитрификации довольно разнообразны [52, 118]. Довольно подробно выяснялась роль денитрификации в метаболизме азота в одном из японских озер [141]. На основании данных сезонных наблюдений показано, что во время ранней стадии стагнационного периода, фиксация азота обычно более интенсивна, чем денитрификация и, наоборот, с усилением стагнации денитрификация постепенно начинает превышать азотфиксацию. В конце стагнационного периода количество денитрифицированного азота значительно больше по сравнению с тем азотом, который поступает в водную массу из других минеральных азотсодержащих соединений, таких как  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NH}_2\text{OH}$ . Авторы отмечают: «обычно полагают, что денитрифицированный  $\text{N}_2$  является одним из конечных продуктов микробальной редукции  $\text{NO}_3^-$  или  $\text{NO}_2^-$  в анаэробной зоне... в нашем случае, однако, денитрификация предпочтительно активнее протекает в окисной зоне озера... и что (за немногими ис-

ключениями) количество денитрифицированного  $N_2$  соответствует примерно  $\frac{1}{4}$  количества потребленного кислорода». Кояма и Томино полагают, что денитрификация, которая проходит в аэробной зоне по стехиометрии схожа со следующей общей реакцией ферментатического окисления глицина растворенным кислородом:



Следует заметить, что соотношение C/N в глицине существенно ниже соответствующих величин, характерных как для органического вещества фитопланктона, так и растворенных гумусовых веществ, поэтому выводы, базирующиеся на этом уравнении, могут потребовать корректировки.

Чтобы понять роль нитрификации и денитрификации в процессах трансформации неорганических азотсодержащих компонентов в воде гипolimниона солоноватого озера Nakaumi, было исследовано влияние концентраций растворенного кислорода на их активности. Об интенсивности того или иного процесса судили по накоплению закиси азота, который образовывался как во время окисления  $\text{NH}_4^+$  до  $\text{NO}_2^-$  при нитрификации, так и во время редукции  $\text{NO}_3^-$  до  $\text{N}_2$  при денитрификации. Активность образования  $\text{N}_2\text{O}$  через нитрификационный путь заметно увеличивалась с уменьшением концентрации растворенного кислорода. Напротив, активность образования  $\text{N}_2\text{O}$  через денитрификацию понижалась с уменьшением концентрации растворенного кислорода. Авторы полагают, что в условиях низкого содержания кислорода  $\text{N}_2\text{O}$ , выделяющаяся в качестве побочного продукта нитрификации, одновременно восстанавливалась до  $\text{N}_2$  при денитрификации. Поэтому во время активной нитрификации в воде гипolimниона оз. Nakaumi не происходит существенного накопления закиси азота [169].

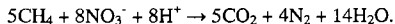
С использованием известного метода ингибирования процесса ацетиленом рассмотрены сезонные (март – декабрь) вариации скоростей денитрификации в оз. Сува (Япония). Они изменялись от 0 до  $1800 \text{ мкМ/м}^2 \text{ сут}$  (в расчете на N). Относительно высокие скорости были характерны для весны и зимы, более низкие – для

летнего периода. Интенсивность денитрификации хорошо коррелировала с концентрацией нитратов в придонной воде, что позволяет считать их основным контролирующим фактором процесса. За счет денитрификации из озера удалялось всего 5% годовой азотной нагрузки на озеро, что заметно ниже, чем известно для других водоемов [131].

Проведенные двумя независимыми методами оценки удаления из водной массы реки азота через денитрификацию показали, что уже через 18.5 км она может достигать 34% от количества нитратов транспортируемого рекой [161].

Измерения скорости денитрификации в интегрированных по вертикали пробах 6-ти водохранилищ Бразилии показали, что они варьируют в пределах от 1.36 до 3.79 мМ/м<sup>2</sup> сут в расчете на N<sub>2</sub>O соответственно в сезон дождей и сухой сезон [98]. Денитрификация была обнаружена только в периоды аноксичности или низких концентраций кислорода. Бактериопланктонное сообщество этого тропического района существенно отличается от такового умеренных широт.

В совершенно неожиданном варианте, когда в качестве донора электронов (восстановителя) в анаэробных условиях выступает метан, а не разные органические вещества или сера, денитрификация была обнаружена рядом исследователей и подвергнута обстоятельному изучению в Институте изучения водных ресурсов и Королевского института морских исследований Голландии [134, 162]. Им удалось доказать, что предполагаемый процесс действительно протекает в природе и соответствующее уравнение может быть записано так:



Подобный процесс может иметь большое значение в круговороте азота, поскольку ниши метаногенов и денитрификаторов обычно совпадают. Знаменательно то, что и при этом процессе в качестве промежуточных продуктов образуются гидроксилламин и гидразин.

Денитрификация настолько распространенное явление, что проявляется и в Арктических льдах [172]. Измеренная скорость

денитрификации в однолетнем льду северного побережья Гренландии составила 100–300 нМ N/л сут. Интегрированные по исследованным площадям интенсивности соответствовали 7-50% активности денитрификации в донных отложениях тех же регионов. Высока во льду и численность соответствующих микроорганизмов.

Исследования, проведенные с использованием стабильных изотопов азота в водах с дефицитом кислорода у побережья Чили, показали, что нитриты в этих водах своим происхождением обязаны окислению аммония через Анаммокс-процесс. Денитрификация не обнаруживалась, поэтому ее вклад в содержание нитритов не мог иметь практического значения. Таким образом, опровергается до сих существующее представление о том, что денитрификация является основным процессом, отвечающим за происхождение нитритов в тех частях открытого океана, где имеется дефицит кислорода [182].

С глобальной точки зрения процесс денитрификации имеет решающее значение для поддержания равновесия в биосфере и, более того для сохранения на земле самой жизни. Денитрификаторы единственные организмы, которые способны и возвращают азот в атмосферу, обеспечивая постоянство круговорота не только азота, но, опосредованно, и других элементов. С другой стороны, при денитрификационных процессах в атмосферу выбрасывается закись азота, которая способствует созданию парникового эффекта даже в значительно большей мере, чем  $\text{CO}_2$ . Экранирующий эффект этого оксида азота в 150 раз выше, чем у  $\text{CO}_2$  и в 4 раза больше, чем у  $\text{CH}_4$ . Игрет роль и среднее его «время жизни» в атмосфере, оцениваемое в 150 лет (для сравнения:  $\text{CO}_2$  живет 100;  $\text{CH}_4$  -10 лет).

Фальковский [120] провел анализ эволюции биогеохимических циклов, результаты которого позволяют предположить, что в геологическом масштабе времени в океанах фиксированный азот (а не фосфор) лимитирует первичную продукцию. Небольшие вариации отношения денитрификации к азотфиксации могут значительно изменять концентрацию атмосферного  $\text{CO}_2$ .

Соотношение этих двух процессов по всей вероятности определяется окислительным состоянием океана и ресурсами микроэлементов, в особенности железа.

### **Гидроксиламин и гидразин в природных водах.**

#### **6. Трансформация и нахождение гидроксиламина в природных водах.**

##### **6.1. Трансформация гидроксиламина в водных средах.**

В отсутствие микроорганизмов в среде разбавленные водные растворы солей гидроксиламина довольно устойчивы, тогда как крепкие быстро разлагаются, особенно в присутствии щелочей [61]. Для выяснения устойчивости ГА в морских водах было проведено специальное исследование [121]. Предварительные эксперименты показали, что ГА в присутствии кислорода крайне нестабилен в растворах солей при  $\text{pH}=8$ . Он был лишь немногим более устойчив в пресных водах при той же самой кислотности среды. При комнатной температуре 5 мкг-атом  $\text{NH}_2\text{OH-N/л}$  (70 мкг N/л) разлагалось за 2-3 часа. Скорость распада зависела от  $\text{pH}$  и приблизительно была пропорциональна концентрации ГА при указанном выше  $\text{pH}$ . Это дало возможность авторам прийти к выводу, что в реакцию скорее всего включалась свободная, а не катионная форма соединения. При величинах  $\text{pH}$  ниже 3 единиц окисгенированные растворы были устойчивы в течение многих дней и даже недель; в полностью обескислороженных растворах соединение было вполне устойчивым даже при  $\text{pH}=8$ . Чтобы выяснить влияние кислорода на скорость разложения ГА были проведены дополнительные исследования, которые показали, что характер кинетики соответствует реакции **нулевого** порядка. Это обстоятельство косвенно свидетельствовало о том, что реакция проходит главным образом на стеклянной поверхности экспериментальных сосудов (использовались склянки для определения БПК объемом 300 мл). Этот неожиданный результат был подтвержден прямыми экспериментами, путем введения в опытные сосуды различных количеств мелких стеклянных бу-



синок. Скорость разложения ГА была не очень чувствительна к концентрации кислорода вплоть до 0.2 мл/л. Дальнейшее понижение содержания кислорода приводило к значительному снижению скоростей разложения – от 0.2-0.3 до 0.03 мкмоль/(л·час). Только небольшая доля (10-20%) гидроксиламинного азота превращалась в нитриты, остальная часть (по предположению авторов статьи) выделялась в виде молекулярного азота или закиси азота, и, возможно, гипонитрита. В продуктах разложения не был обнаружен аммиак. Экспериментальная оценка количества кислорода, расходуемого на деструкцию ГА, показала, что хотя кислород вероятно катализирует разложение, очень мало его потреблялось во время реакции (только около 10-20% от того количества, которое необходимо для образования нитритов и нитратов). К сожалению, в обсуждаемой работе отсутствует указание на то, с каким препаратом ГА были проведены исследования по кинетике деструкции, хотя отмечается, что для построения калибровочного графика использовался коммерческий препарат – гидроксиламингидрохлорид. Очевидно, что различные соединения ГА (гидрат, гидрохлорид, сульфат и т.п.) могут трансформироваться с различными скоростями как химическим, так и биологическим путем. Не обсуждается и возможность влияния микрофлоры на результаты эксперимента.

Проведенные нами эксперименты с низкими концентрациями солянокислого ГА (0.05 мг N/л), помещенными в дистиллированную воду, указывают на высокую устойчивость этой соли; за месячный срок экспозиции не произошло заметной убыли ГА, несмотря на насыщенность растворов кислородом [80]. Устойчивость солей ГА к воздействию молекулярного кислорода в отсутствие катализаторов и других окислителей, вероятно, связана с низкой активной реакцией среды ( $\text{pH} < 5$ ). В то же время хорошо известно, что сам ГА и его соли способны легко вступать в химическое взаимодействие с различными окислителями, в том числе с солями трехвалентного железа и нитритами – непременными компонентами природных и сточных вод.

Априори можно полагать, что обнаруживаемые в водоемах низкие концентрации ГА определяются не только малым числом проведенных в водных объектах натурных исследований, но и относительно низкими скоростями его образования и деструкции, сведения о которых применительно к природным водам крайне фрагментарны. Необходимость получения кинетических параметров трансформации ГА диктуется возможностью не только пополнить наши знания об особенностях круговорота важнейшего органогенного элемента - азота, определяющего многие существенные особенности функционирования водных экосистем, но и оценить практически важную характеристику - самоочищающую способность водоемов от этого токсического соединения.

Для решения подобных задач нами были проведены исследования по выявлению закономерностей биохимической трансформации гидроксиламина в природных водах. В свежееотобранную из Рыбинского водохранилища воду добавляли различные концентрации солянокислого гидроксиламина (0; 0.01, 0.05; 0.5 и 5.0 мг N/л). Выбор концентраций диктовался предельно допустимыми концентрациями его в природных водах (верхний предел, по солянокислому ГА [8]) и известными низкими концентрациями его в незагрязненных специфическими промышленными стоками природных водах (нижний предел). Кроме того, концентрации ГА до 5-10 мг N/л не ингибируют рост штаммов бактерий, выделенных из пресноводных местобитаний [79]. Подготовленные образцы объемом 5 л помещали в темноту и выдерживали при постоянной температуре ( $18 \pm 2^{\circ}$  C) в течение длительного времени. Для поддержания аэробных условий в среде воду постоянно продували очищенным от  $\text{CO}_2$  и  $\text{NH}_4$  воздухом с помощью аквариумного микрокомпрессора. Результаты экспериментов (рис. 10) указывают на то, что бактериальное разложение гидроксиламина в темновых условиях при комнатной температуре проходит через ряд стадий. На первой из них образуется нитрит, который далее окисляется до нитрата.

Такой ход процесса бактериальной трансформации гидроксилamina согласуется с каноническим путем процессов нитрификации и служит косвенным доказательством того, что он действительно может быть промежуточным продуктом известных широкомасштабных природных процессов. Адаптация бактериального ценоза к гидроксилмину проходит практически без лаг-фазы даже при несколько пониженной по сравнению с оптимальной для их роста и размножения температурой.

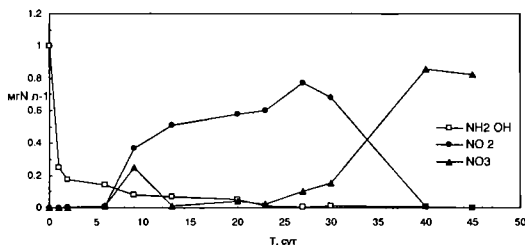


Рис.10. Динамика трансформации гидроксилмингидрохлорида в природной воде.

Процесс трансформации протекает с высокой интенсивностью — уже на второй день в экспериментальных сосудах остается только 25% от его первоначального количества. Резкое понижение концентрации ГА в начальные 5 дней эксперимента не сопровождается соответствующим увеличением концентрации нитритов. Это явный признак того, что сначала из гидроксилamina образуется некий промежуточный продукт, степень окисления азота в котором находится между -1, характерным для ГА, и +3,

характерным для нитритов. Теоретически предполагается, что окисление ГА может пойти в трех направлениях; через дигидроксид аммония -  $\text{NH}(\text{OH})_2$ , нитроксил -  $\text{N}^+\text{O}^-\text{NH}$  и гипонитрит -  $\text{N}_2\text{H}_2(\text{OH})_2$ . Но доказательств существования соответствующих реакций нет [52, 56, 142]. При искусственном создании высоких исходных концентраций аммонийного азота в водах, взятых из различных природных источников, нитрификация в присутствии ацетата натрия сопровождается одновременным, наряду с ГА, появлением очень устойчивого относительно бактериального окисления и обладающего канцерогенными свойствами «связанного ГА», который идентифицирован как 1-нитрозозетаноламин [79, 184-187]. Образование нитрозозетаноламина, возможно в димерной форме, констатировано и при открытии нового вида гетеротрофной нитрификации [56, 184] в опытах с аксеничными культурами микроорганизмов. Среда специально обогащалась ацетатом, возможно, поэтому свободный ГА мог переходить в указанную связанную форму.

После 5-тидневной экспозиции в опытных сосудах бактериальное разложение ГА протекает по известному пути нитрификационных процессов, т.е. идет накопление и последующая убыль нитритов, а затем из неорганических форм азота в сосудах остаются только нитраты.

При низких концентрациях (0.01 мг N/л) солянокислый ГА практически разлагается за 2 суток (табл. 6). Обнаруженные здесь высокие концентрации нитритов в конце эксперимента (до 480 мкг N/л на 40-е сутки) не связаны с наличием продуктов разложения ГА, а обусловлены бактериальным разложением присутствовавших в исходной воде азотсодержащих органических соединений. Об этом свидетельствуют результаты контрольных опытов с исходной водой без добавления ГА. В этом случае даже в отсутствие токсичного для микроорганизмов ГА в экспериментальном сосуде нитриты накапливаются примерно в тех же концентрациях, что и в предыдущем примере, да и по времени эти процессы совпадают. Как и следовало ожидать, чем меньше исходная концентрация ГА, т.е. чем менее

токсична среда, тем быстрее бактериальный ценоз справляется с переработкой введенного продукта. Если для полной деструкции 1 мг N/л солянокислого ГА требуется не менее 30 сут, то для разрушения 0.1 мг N/л достаточно 20 сут, а при исходной концентрации в 0.01 мг N/л процесс занимает не более 2-х суток.

Таблица 6. Изменение содержания азотсодержащих компонентов в опытах с низким исходным содержанием ГА (мг N/л).

Время Сутки	Контроль			0.01 мг N/л ГА			0.1 мг N/л ГА		
	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>2</sub> OH	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>2</sub> OH	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>2</sub> OH
0	0.001	0	0	0.001	0.005	0.010	0.001	0	0.100
2	0.001	0	0	0.001	0.005	0.001	0.004	-	0.033
6	0.001	0.003	0	0.001	0.005	0	0.005	0.048	0.024
9	0.001	0.002	0	0.001	0.001	0	0.005	0.032	0.026
13	0.001	0.004	0	0	0.001	0	0.005	0.048	-
20	0.001	0.002	0	0.001	0.002	0	0.001	0.038	0.009
23	0.003	0.002	0	0.002	0.003	0	0.007	0.042	0.004
27	0.010	0.002	0	0.009	0.003	0	0.030	0.056	0.004
30	0.050	0.002	0	0.050	0.002	0	0.280	0.110	0
35	0.500	0.002	0	0.460	0.010	0	0.470	-	0
40	0.510	0.010	0	0.480	0.200	0	0.270	0.520	0

В окружающей среде наиболее высоких концентраций ГА можно ожидать в сточных водах специфических химических производств, связанных с его получением и использованием. Другим значимым внешним источником пополнения водоемов ГА могут оказаться бытовые стоки. Технология их очистки в значительной своей части специально приспособлена для усиления биохимических процессов нитрификации и денитрификации. Однако исследования, проведенные с бытовыми сточными водами пос. Борок показали, что на входе в очистные сооружения (ОЧС) и на выходе из них концентрация ГА составляла менее 10 мкг N/л т. е. не превышала величин, характерных для некоторых локальных участков исследованных водоемов. Эти ве-

личины существенно меньше, чем можно было бы ожидать на основании интенсивно протекающих внутри ОЧС нитрификационных процессов. В пробе воды, взятой на входе в очистные сооружения, концентрация нитритов составляла около 6 мкг N/л, а на выходе достигла 250 мкг N/л. Почему в столь богатых соединениями азота средах и столь масштабной нитрификации содержание ГА остается относительно низким?

Результаты опытов по исследованию биохимической трансформации азотсодержащих компонентов в бытовых сточных водах пос. Борок показывают (рис. 11), что имевшиеся в начале небольшие количества ГА полностью исчезают за первые сутки эксперимента, свидетельствуя о высоких скоростях его разрушения. Практическое отсутствие нитритов в первом и отсутствие их прибыли во втором опытах вплоть до 8-15 суток свидетельствует об отсутствии протекания нитрификационных процессов в заметных масштабах. Основной причиной приостановки или задержки нитрификации, по-видимому, является необходимость адаптации исходного бактериального ценоза к изменившимся (по сравнению с имевшими место в ОЧС) физическим условиям среды. В дальнейшем процессы трансформации азотсодержащих компонентов протекают по каноническому пути: из аммиачного азота образуется нитритный, который на второй стадии нитрификации преобразуется в нитратный. Поскольку промежуточным продуктом при преобразовании аммонийной формы азота в нитритную является ГА, то его появление в небольших количествах в экспериментальных сосудах на 14-15-е сутки свидетельствует о нормальности протекания процессов (рис. 11).

Однако даже при значительных масштабах нитрификации концентрация ГА в сопоставимых единицах на три порядка ниже концентрации нитритов. Высокая восстановительная способность чистого ГА (а именно только эта форма может образовываться при трансформации иона аммония), вероятно, способствует его удалению из экспериментальной среды путем взаимо-

действия с окислителями, такими как трехвалентное железо, непреходящим компонентом сточных вод.

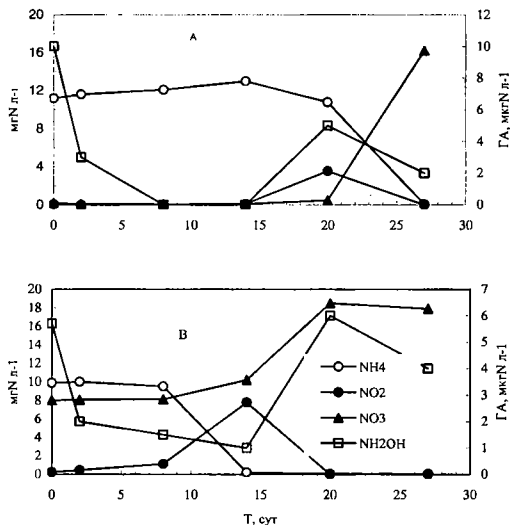


Рис. 11. Динамика азотсодержащих компонентов на входе (А) и выходе (В) из очистных сооружений.

Солянокислый ГА в этих условиях, как и в природных водах, трансформируется медленнее. Опыты с искусственными добав-

ками в те же сточные воды высоких (1 мг N/л) концентраций ГА показывают, что процесс заканчивается за 10-15 дней (рис. 12).

Любопытным следствием этих опытов является полное подавление второй стадии нитрификации - превращение нитритов в нитраты - при исходных концентрациях конечного продукта (нитратов), превышающих 8-10 мг N/л.

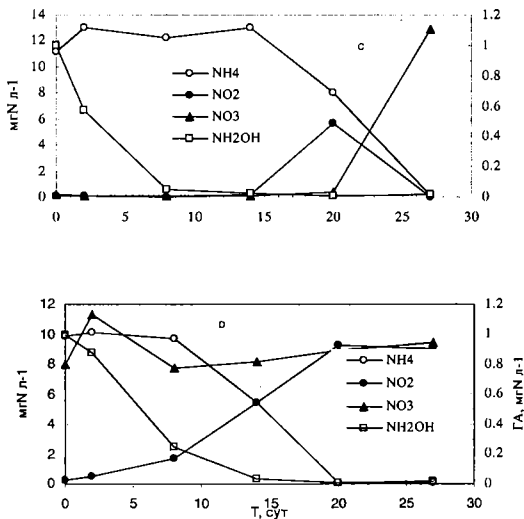


Рис. 12. Динамика азотсодержащих компонентов на входе (С) и выходе (D) из очистных сооружений при добавках 1 мг N/л гидросиламигидрохлорида.



Практически это открывает простые пути для выделения чистых культур бактерий *Nitrosomonas*, т.е. организмов, осуществляющих 1-ую стадию нитрификации.

Кинетика и масштабность процессов окисления ГА в природных водах во многом определяются численностью и активностью микробного звена. Можно полагать, что плотность популяции микроорганизмов в наших экспериментах изменяется в соответствии с классическими канонами [52, 56]. Об этом свидетельствует практическое отсутствие лаг-фазы, длительность которой не превышала 1 сут. Из этого же следует, что нет необходимости в предварительной адаптации бактериального ценоза исходной воды к исследуемому субстрату, что и гарантирует отсутствие грубых погрешностей в полученных результатах.

Прямое применение кинетических уравнений 1-го, 2-го (и более высоких) порядков к полной совокупности экспериментальных данных по бактериальному разложению гидроксилamina приводит к недостаточно удовлетворительным результатам (табл. 7).

Строго говоря, кинетические уравнения можно применять к описанию процессов лишь с того момента времени, когда в экспериментальном сосуде установятся постоянные условия протекания реакции. Поэтому часто величина  $C_0$ , определяемая как количество исходного вещества, вносимого в реактор, не может быть отождествлена с величиной  $C_0$ , фигурирующей в кинетических уравнениях [97].

В наших экспериментах постоянство условий (температура, свет и др.) в опытных сосудах достигается за первые сутки, в течение которых значительная доля ГА подвергается трансформации, не поддающейся строгому математическому описанию.

Поэтому установление порядка реакции и расчет константы скорости мы провели для установившегося режима. Полулогарифмическая анаморфоза (рис. 13) этой части общей кинетической кривой имеет вид прямой линии, что наглядно свидетельствует о протекании процессов биохимического

Таблица 7. Изменение содержания азотсодержащих компонентов при разложении ГА (1мг N/л) и кажущиеся константы скорости реакции 1-го и 2-го порядков.

Экспозиция	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>2</sub> OH	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>
сут	мг N/л			1/сут	л/(мг сут)
0	0.001	0	1.000	-	-
1	0.001	0.001	0.248	1.39	3.03
2	0.004	0.010	0.174	0.87	2.37
6	0.009	0.024	0.143	0.32	1.00
9	0.370	0.015	0.081	0.28	1.26
13	0.510	0.001	0.060	0.22	1.21
20	0.580	0.004	0.050	0.15	0.95
23	0.600	0.002	0.010	0.20	4.30
27	0.770	0.100	0.008	0.18	4.59
30	0.680	0.240	0.013	0.15	2.53
35	0.006	0.800	0.006	0.15	4.73
40	0	0.820	0	-	-

разложения ГА в соответствии с кинетическим уравнением необратимой реакции 1-го порядка (рис. 13). Среднее значение кажущейся константы скорости, рассчитанное как тангенс угла наклона этой прямой, составляет  $K_1 = 0.05 \text{ сут}^{-1}$ . В соответствии с этим значением константы время полупревращения ГА (время, в течение которого вещество разложится наполовину) будет равно  $T_{0.5} = 6$  суткам, а его среднее «время жизни» составит  $T = 20$  сут. Эти результаты не согласуются с результатами исследований влияния концентрации кислорода на скорость разложения ГА при pH=7.8 и температуре  $15^{\circ}\text{C}$  в морской воде, в которых было найдено, что реакция имеет нулевой порядок, по крайней мере для разложения большей части ГА [121]. Однако нулевой порядок реакции в обсуждаемых экспериментах обеспечивался главным образом тем, что реакция проходила на поверхности стекла (в этой работе были использованы 300мл склянки для

БПК), что было подтверждено добавлением различных количеств битого стекла в опытные сосуды, в которых было зарегистрировано увеличение скорости реакции нулевого порядка.

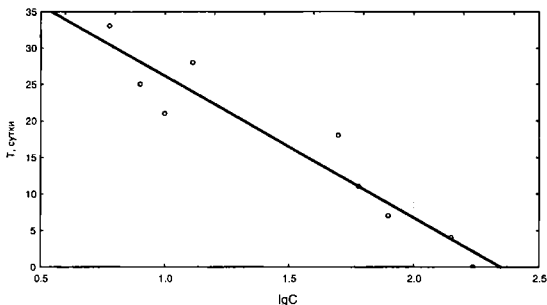


Рис. 13. Полулогарифмическая анаморфоза кинетической кривой разложения ГА. ( $C$  – текущая концентрация ГА, мкг N/л;  $T = 45.6 - 19.4 \lg C$ ,  $r = 0.94$ ).

Использование склянок существенно большего размера (5 л) в наших опытах практически сводит на нет влияние стенок сосудов и дает возможность получить истинные скорости разложения ГА.

Таким образом, результаты проведенных нами экспериментов позволяют заключить, что самоочищение водоемов от попадающего в них наиболее распространенного производного ГА (гидрохлорида) будет происходить довольно медленно. Это обстоятельство в совокупности с высокой токсичностью ГА требует специальных мер предосторожности, точнее даже недопущения сбросов промышленных сточных вод, содержащих этот компонент, в окружающую среду. С другой стороны, бытовые

сточные воды, несмотря на масштабность протекающих при их биологической очистке процессов нитрификации и денитрификации, содержат незначительные количества ГА, притом, по-видимому, в свободной форме, который в аэробных условиях подвергается быстрому химическому окислению растворенным кислородом. Высокая неустойчивость свободного ГА или его гидрата к атмосферному кислороду делает бытовые стоки менее опасными с точки зрения загрязнения водоемов ГА.

## **6.2. Гидроксиламин в водных экосистемах.**

Несмотря на глобальность происходящих процессов азотфиксации, нитрификации, денитрификации и доказанность образования при этом в качестве токсичного промежуточного продукта гидроксиламина, работы по прямому измерению его содержания в природных водах крайне малочисленны.

Гидроксиламин впервые был обнаружен в мезотрофном горном озере Кизаки-ко, расположенном в Центральной Японии [181]. В этом озере еще в начале лета (3 июня 1952 г.) ГА не было ни в каких слоях. К середине осени сформировалась ярко выраженная стратификация неорганических соединений азота и появился ГА, пик содержания которого находился в придонном слое воды (табл. 8).

Единственной причиной постепенного уменьшения содержания кислорода и увеличения содержания нитритов и ГА по мере продвижения от поверхности ко дну в стагнационный период автор считает все возрастающую активность нитратредуцирующих бактерий. Спустя десятилетие в течение трех лет велись обширные наблюдения за гидрохимическим режимом этого озера [141]. Была получена картина вертикального распределения различных химических компонентов в различные сезоны года (Табл. 9). Зимой, вследствие активного перемешивания воды и малой интенсивности процессов фиксации азота и денитрификации, содержание практически всех компонентов не изменялось от поверхности до дна. В промежутке между концом периода зимней циркуляции и началом периода весенней стагна-

ции во всех слоях воды, за исключением поверхностного, отмечалась активизация процессов азотфиксации.

Таблица 8. Вертикальное распределение неорганических соединений азота в воде оз. Кизаки-ко 5 сентября 1952 г. [181].

Глубина	O <sub>2</sub>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>2</sub> OH
м	мл/л	мг N /л			
0	5.77	<0.01	<0.001	<0.02	<0.001
2.5	5.67	0.018	<0.001	<0.02	<0.001
5.0	5.45	0.018	<0.001	<0.02	<0.001
7.5	5.71	0.018	<0.001	<0.02	<0.001
10.0	4.86	0.016	<0.001	<0.02	<0.001
12.5	4.33	0.016	<0.001	0.08	<0.001
15.0	4.30	0.018	<0.001	0.07	<0.001
17.5	4.08	0.018	<0.001	0.15	<0.001
20.0	1.98	0.016	<0.001	0.20	<0.001
22.5	1.73	0.018	<0.001	0.16	<0.001
25.0	0.56	0.018	<0.001	0.28	<0.001
26.0	-	0.018	<0.004	0.28	0.004
27.5	-	0.016	<0.012	0.19	0.007
28.0	-	0.016	<0.014	0.11	0.011
Над дном					
0.40	0.42	0.020	0.016	0.09	0.011
0.20	0.31	0.020	0.019	0.08	0.011
0.05	0.49	0.020	0.019	0.06	0.011
0	0.39	0.023	0.015	0.05	0.021

В апреле (начало весенней стагнации) развитие синезеленых водорослей усиливалось и в результате начала устанавливаться термическая и кислородная стратификация. В это время у дна немного повышалось содержание ионов аммония. В середине стагнационного периода содержание кислорода резко снижалось с глубиной; ниже 28.0 м кислород отсутствовал вовсе.

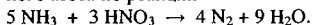
Табл. 9. Вертикальное распределение различных компонентов в оз. Кизаки-ко в конце летней стагнации (первая декада сентября 1963 г.) [141]

Глубина	T	O <sub>2</sub>	NH <sub>2</sub> OH	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
м	°C	мл/л	мкгN/л			
0	21.8	6.05	0	23	0	5
2.5	21.6	5.56	0	26	0	9
5.0	21.2	5.81	0	11	0	7
7.5	13.6	5.18	0	9	0	21
10.0	9.7	5.15	0	8	0	50
12.5	8.2	3.80	0	3	0	88
15.0	7.7	3.40	0	7	0	174
17.5	7.3	2.82	0	26	0	210
20.0	6.6	1.37	0	58	0	155
21.5	-	0.65	0	48	0	285
22.5	6.2	0.83	7.2	58	1.0	265
23.5	-	0	-	42	2.0	343
25.0	6.1	0	10.1	222	2.5	128
27.5	6.0	0	-	371	2.0	12
28.0	-	0	0	257	0	12
28.5	-	0	0	272	0	3

В анаэробной зоне обнаруживались небольшие количества восстановленных соединений, такие как Fe<sup>2+</sup> и CH<sub>4</sub>. На границе между оксичной и аноксичной зонами (28 м) впервые появлялись ГА и нитрит-ионы, но содержание их еще небольшое. В конце летней стагнации концентрация аммонийных ионов у дна достигала максимума и постепенно уменьшалась по мере продвижения к поверхности. Содержание нитратов росло от поверхности со дну вплоть до аноксичной зоны, а затем быстро падало вплоть до полного исчезновения. Гидроксиламин и нитриты были локализованы в узкой зоне между 22.5 и 25 м (Табл. 9).

Для объяснения этих результатов была выдвинута гипотеза, в соответствии с которой при слабой циркуляции воды большая часть нитратов энзиматически реагирует с аммонием, подни-

мающимся вверх из придонной воды, с выделением молекулярного азота по реакции:



Возможность такого хода процессов хотя и вероятна, но до сих пор не подтверждена химиками и микробиологами.

Результаты этих исследований свидетельствуют, что ГА появляется только во время сильно развитой стратификации на границе между оксичной и аноксичной зонами и существует в очень ограниченной области в слое 2.5-3м. Ни выше, ни ниже этого слоя ГА не был обнаружен, возможно, вследствие недостаточной чувствительности использованного метода анализа.

В Седлищем водохранилище, расположенном на р. Желивка (Чехословакия), в марте ГА сосредоточен в придонном слое воды при полном отсутствии нитритов (табл. 10). Совместное присутствие этих форм азота в период открытой воды (апрель, июнь) по вертикали указывает на развитость процессов нитрификации по всей глубине водоема. Особенно интенсивно они проходят летом. В это время, по всей вероятности, в связи с развитием и последующим отмиранием водорослей, в придонной воде создаются условия, близкие к анаэробным, что приводит к подавлению нитрификации и усилению денитрификации.

Фотометрическим методом, разработанным Вокоуновой-Геровой [176], изучалось распределение ГА в озере с 4-мя различными зонами сапробности с точки зрения биологических факторов [129]. Авторы пришли к выводу, что в сильно эвтрофированных водах ГА возникает в качестве метаболита при основном обмене веществ первичных продуцентов, особенно зеленых водорослей. Поэтому наиболее высокие концентрации ГА обнаруживались в летние месяцы, в период максимального развития автотрофов. В воде, из которой удалялись продуценты, ни в одном случае не удалось доказать наличие ГА. По мнению авторов цитируемой работы, «биологическое происхождение гидроксиламина подтверждается между прочим и тем обстоятельством, что ночью находились более высокие концентрации гидроксиламина, чем днем. Также и в культурах водорослей, инку-

бированных при дневном свете, была частота присутствия значительно выше, чем в культурах инкубированных под красным целлофаном». Содержание ГА во все сроки наблюдений было очень высоким (табл. 11).

Таблица 10. Сезонное и вертикальное распределение ГА в Седлицком водохранилище по [176].

Дата отбора проб	Глубина, м	NH <sub>2</sub> OH, мкг/л	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мкг/л
19.03.1958	0	0	10
	2	0	10
	4	0	15
	6	0	18
	8	0	22
	10	26	0
	12	26	0
10.04. 1958	0	3	7
	2	4	6
	4	7	7
	6	3	15
	8	3	8
	10	3	8
	12	13	7
19.06.1958	0	22	32
	2	19	30
	4	28	30
	6	27	38
	8	17	40
	10	38	80
	12	2	2



Таблица 11. Содержание ГА в оз. Храбы по [129].

Дата отбора	Зона	Температура °C	O <sub>2</sub> , мг/л	NH <sub>2</sub> OH, мкг/л	NO <sub>2</sub> , мкг/л
5. 04.	I	4	12.7	120	100
	II	4	12.2	120	140
	III	5	13.7	120	160
	IV	3	12.1	120	150
23. 05	I	14	9.0	180	30
	II	23	6.1	230	100
	III	17	8.5	180	110
	IV	14	6.7	180	120
3. 06.	I	10	10.0	120	60
	II	16	3.3	280	330
	III	16	8.6	240	130
	IV	15	8.1	240	120
	I	18	7.6	110	200
	II	23	0	80	20
	III	24	13.4	60	30
	IV	21	7.3	60	70
15.08	I	17	9.1	120	80
	II	19	0	120	40
	III	19	11.4	130	90
	IV	17	7.7	130	100
19.09.	I	15	10.3	120	180
	II	18	3.1	100	190
	III	18	9.8	110	130
	IV	18	7.6	130	90

На основании косвенных данных (увеличения содержания нитрит-иона при кипячении проб воды) было сделано предположение о возможном наличии больших количеств ГА в одном умеренно щелочном кратерном озере Эфиопии [100]. Более поздние измерения содержания ГА с использованием гравимет-

рического метода в реках и озерах Эфиопии привели к невероятно высоким концентрациям (до 5 мг/л) [159].

Гидроксиламин был обнаружен в крупнейшем среди высокогорных озер Мира оз. Севан, расположенном в Армении. Это озеро полуостровом и мысом разделено на две неравные части: Большой Севан (площадь водного зеркала 916 км<sup>2</sup>, средняя глубина -22.8 м) и Малый Севан (площадь водного зеркала 328 км<sup>2</sup>, средняя глубина - 39.5 м), водообмен между которыми из-за узости соединяющего их пролива затруднен. Вода озера обычно на всех горизонтах по всей акватории почти в течение круглого года содержит то или иное количество кислорода. В отдельные годы (особенно осенью) вследствие усиления микробиологических процессов окисления метана и аммония происходит быстрое и полное потребление растворенного кислорода и формируется анаэробный гипоксический [2, 3]. Значительные концентрации ГА (10-20 мкг N/л) встречались как весной (май), так и в другие сезоны (табл. 12).

Таблица 12. Пространственное и сезонное распределение ГА в эпи-, мета- и гипоксическом на глубоководной станции (56м) оз. Севан в 1982г., мкг N/л [2,3].

	Формы*	30.04	27.05	24.06	28.07	30.08	30.09	28.10
Эпи	<b>NH<sub>2</sub>OH</b>	<b>0</b>	<b>8</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>12</b>	<b>0</b>	<b>14</b>
	NO <sub>3</sub>	2	7	0	3	9	25	4
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	140	40	20	96	10	0	0
	Нобщ	950	850	780	680	720	680	940
Мета	<b>NH<sub>2</sub>OH</b>	<b>0</b>	<b>9</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>15</b>	<b>14</b>	-
	NO <sub>3</sub>	2	9	1	4	68	18	-
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	140	40	0	93	100	130	-
	Нобщ	960	1000	690	710	850	740	-
Гипо	<b>NH<sub>2</sub>OH</b>	<b>0</b>	<b>9</b>	<b>6</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>14</b>	<b>12</b>
	NO <sub>3</sub>	4	23	121	47	95	15	57
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	140	130	20	40	80	130	280
	Нобщ	1010	1040	810	900	850	730	1130

\* NO<sub>3</sub> - сумма NO<sub>2</sub>+NO<sub>3</sub>.

В ноябре 1982 г. в гипolimниальном слое Малого Севана зафиксирована максимальная концентрация ГА (112 мкг N/л).

Такого же порядка и даже еще более высокие концентрации ГА были обнаружены в некоторых притоках озера. Например, в р. Гаварагет, питающейся грунтовыми, талыми и дождевыми водами, концентрация ГА в период с августа по октябрь заметно превышала 100 мкгN/л. В то же время в высокогорной р. Арпе, питающейся в основном талыми водами, концентрация ГА была существенно меньше, да и встречалась лишь в отдельные периоды (табл. 13).

Вовсе не было ГА в воде подземного источника, как не было там и аммонийного азота, что свидетельствует о глубоко прошедшей трансформации азотсодержащих соединений, конечным продуктом которой являются нитраты.

Таблица 13. Сезонная динамика содержания соединений азота в притоках оз. Севан в 1982 г. [2,3].

Притоки	Формы	22.04	18.05	14.06	23.07	19.08	21.09	19.10
р.Гаварагет	<b>NH<sub>2</sub>OH</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>50</b>	<b>120</b>	<b>110</b>	<b>130</b>
	NO <sub>3</sub>	2100	1400	2300	2730	3060	5000	3140
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	290	220	210	200	240	50	270
	Нобщ	5080	2510	4980	3430	3700	5510	5300
р.Арпа	<b>NH<sub>2</sub>OH</b>	<b>0</b>	<b>10</b>	<b>0</b>	<b>30</b>	<b>0</b>	<b>10</b>	<b>10</b>
	NO <sub>3</sub>	800	900	350	1000	2840	2500	2990
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	50	0	0	50	0	0	0
	Нобщ	1600	1750	3190	2600	3500	3810	4290
Родник	<b>NH<sub>2</sub>OH</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
	NO <sub>3</sub>	1500	1700	1700	2000	1800	1750	1800
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	0	0	0	0	0	0	0
	Нобщ	2600	2350	2410	2600	2500	2340	2630

Среднегодовое содержание гидроксилamina в воде на всех станциях существенно превышало соответствующую величину для нитритов и было сравнимо с содержанием нитратов (табл. 14).

Таблица 14. Среднегодовое содержание соединений азота в водной массе оз. Севан в 1982 г. [2,3].

Станция №	Формы азота, г N/м <sup>2</sup>						Средняя конц-ия
	NH <sub>2</sub> OH	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CO	Нобщ	Нобщ, мг/л
4	0.72	0.03	1.64	4.00	4.90	47.0	0.84
22	0.21	0.04	0.50	2.40	3.23	30.3	1.08
24	0.18	0.01	0.64	1.50	3.47	23.7	0.85
34	0.06	0.01	1.05	0.24	0.53	5.6	1.12

Значительные количества ГА содержались в донных отложениях Севана (табл.15). Авторы отмечают зависимость амплитуды колебаний общего содержания азота в илах от глубины их залегания. В грунтах литорали (ст. 34, глубина 5 м) концентрация Нобщ изменялась более чем в 10 раз, на станциях 22 и 24 (глубины 28-30 м) – в 5 раз, а на самой глубоководной станции (ст. 4, глубина 56 м) всего в 1.5 раза. Максимальная и примерно одинаковая обеспеченность донных отложений азотом отмечена осенью, после массового отмирания планктона.

Авторы обсуждаемой работы не проводят анализа причин возникновения ГА и лишь вскользь упоминают, что ГА является обычным промежуточным продуктом окисления аммония. Проведенная нами статистическая обработка большого экспериментального материала, полученного Ж. Бабян и др., не выявила связи между содержанием ГА и другими неорганическими формами азота. Не было установлено определенных закономерностей и в сезонном распределении ГА. Обращает на себя

Таблица 15. Сезонная динамика содержания соединений азота (мг N/л) в поверхностном слое (0-2 см) грунта оз. Севан в 1982 г. [2,3].

Стан-ция №	Формы	28.04	26.05	23.06	27.07	30.08	29.09	27.10
4	NO <sub>3</sub>	10.4	0.70	1.72	0.80	1.40	1.50	0.43
	NH <sub>2</sub> OH	0.09	0.37	0.16	0.24	0.04	0	0.56
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	42.0	27.4	51.6	8.60	30.4	28.6	18.2
	(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	-	41.1	26.6	10.2	0	0	0
	CO							
	Нобщ	1480	1440	1320	1130	-	1610	1580
24	NO <sub>3</sub>	1.40	0.71	3.74	1.30	0.43	0.12	0.91
	NH <sub>2</sub> OH	0.0	0.52	0.27	0.05	0.64	0.12	0.05
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	44.0	3.80	33.4	21.3	17.6	22.4	21.2
	(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	-	24.8	7.30	7.90	18.7	1.60	0.0
	CO							
	Нобщ	597	538	402	744	682	2150	1500
34	NO <sub>3</sub>	2.40	0.50	1.62	1.80	0.21	0.18	0.76
	NH <sub>2</sub> OH	0.0	0.19	0.10	0.07	0.06	0.23	0.12
	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	21.5	5.60	8.00	42.1	22.1	10.0	0.0
	(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>	-	3.20	10.3	13.2	16.0	11.8	9.00
	CO							
	Нобщ	300	305	233	1060	662	2420	1270

внимание то обстоятельство, что ГА мог присутствовать в гипolimнине при полном его отсутствии в эпилимнионе и наоборот (август, сентябрь). В таком случае можно предполагать, что ГА в оз. Севан своим происхождением мог быть обязан не только окислению аммония, но и процессам денитрификации. Эпизодические определения интенсивности денитрификации в озерных грунтах в 1980 г. проведенные Ж.К. Бабаян показали, что она была невелика и лишь в 2 раза превышала уровень азотфиксации в тех же донных отложениях. Отсутствие соответствующ-

ших данных по воде не позволяет оценить вклад этого процесса в формирование и распределение ГА.

В 2002-2004 гг. нами проведены исследования сезонной динамики азотсодержащих компонентов, в том числе ГА, в мелководном гипертрофном озере Неро, расположенном на территории Ярославской области. При среднемноголетнем уровне озеро имеет длину 13.2 км, ширину 8.3 км. Средняя площадь зеркала - 57.8 км<sup>2</sup>, средняя глубина 1.5 м, максимальная - около 4.5 м. Свыше 80% акватории занимают участки с глубинами, близкими к средней глубине (условно - литораль). Донные отложения представлены мощным слоем сапропеля [13, 89]. Обычно более 20% площади озера занято зарослями высшей водной растительности [38, 39]. Основной чертой кислородного режима является полное насыщение всей водной толщи в период открытой воды и резкий дефицит в подледный период, доходящий до полного отсутствия кислорода почти на всей акватории (Рис. 14).

Чрезвычайно интересной особенностью функционирования экосистемы оз. Неро в отдельные годы является практически полное отсутствие в вегетационный период неорганических форм азота (аммонийного, нитритного, нитратного), фосфатов и растворимых форм кремния во всей водной толще (Рис. 15).

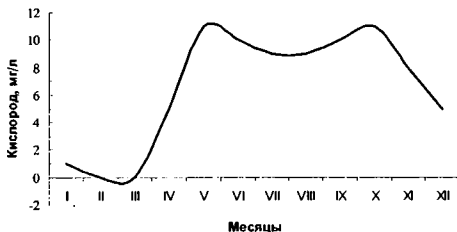


Рис. 14. Динамика кислорода в центре оз. Неро.

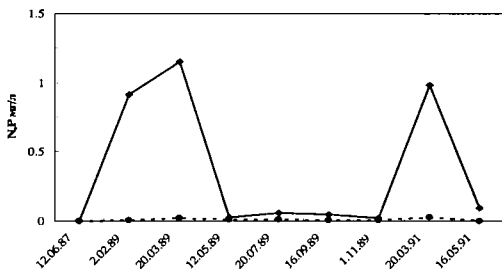


Рис. 15. Динамика суммы минеральных форм азота (мг N/л, сплошная линия) и фосфора (мг P/л).

Т.е. максимальная первичная продукция в оз. Неро может быть лимитирована сразу по трем компонентам. Перечисленные особенности существенным образом сказываются на прохождении естественных природных процессов, а в обсуждаемом контексте на интенсивность азотфиксации, нитрификации, денитрификации и тем самым, на содержании гидроксиламина. Работы проводились на стандартной сети из 15 станций, охватывающей всю акваторию озера и позволяющей охарактеризовать его основные водные массы [13].

Сравнительно высокие концентрации ГА в воде оз. Неро были обнаружены в октябре 2002 г. (табл. 16). Резкое наступление холодов в период проведения этих экспедиционных работ (температура воды не превышала 2 °С, а часть проб была отобрана из-под слоя льда, толщиной до 5 см), по-видимому, существенно

ускорило процессы отмирания фитопланктона и высшей водной растительности. В свою очередь интенсифицировались и связанные с массовой гибелью фотосинтетиков процессы аммонификации и нитрификации. Более теплые осени последующих лет, особенно 2004 г., могли привести к более медленному прохождению указанных процессов и, тем самым, к меньшим концентрациям ГА на данный конкретный момент времени. В летних пробах ГА, как правило, отсутствует.

В 2002-2004 гг. в озерной воде, хотя и в незначительных количествах, уже отмечалось присутствие аммонийного азота и ортофосфатов (табл. 16).

Таблица 16. Содержание форм азота и фосфора в оз. Неро, мг/л.

№ ст.	$\text{NH}_4^+$	$\text{NO}_2^-$	$\text{NO}_3^-$	$\text{N}_{\text{общ}}$	$\text{PO}_4^{3-}$	$\text{P}_{\text{общ}}$	$\text{NH}_2\text{OH}$ , мкг N/л
октябрь 2002 г.							
1	0.04	0.005	0.098	0.43	0.059	0.064	21
2	0.18	0.04	0.003	1.52	0.037	0.080	13
3	0.06	0.01	0.003	2.48	0.005	0.144	25
4	0.05	0.004	0.003	2.15	0.009	0.138	10
5	0.15	0.012	0.082	2.08	0.009	0.108	11
6	-	0.035	0.250	1.75	0.170	0.220	18
7	0.05	0.004	0.002	2.19	0.011	0.122	13
8	0.09	0.005	0.032	2.26	0.016	0.128	13
9	0.06	0.004	0.007	2.16	0.010	0.120	7
10	0.11	0.005	0.031	1.95	0.017	0.088	14
11	0.05	0.002	0.001	0.84	0.015	0.024	15
12	0.04	0.003	0.002	1.97	0.013	0.088	15
14	0.05	0.004	0.005	1.83	0.010	0.088	14
15	0.05	0.005	0.003	2.39	0.008	0.132	15
16	0.28	0.011	0.160	1.15	0.44	0.54	18



Продолжение таблицы 16.

№ ст.	$\text{NH}_4^+$	$\text{NO}_2^-$	$\text{NO}_3^-$	$\text{N}_{\text{общ}}$	$\text{PO}_4^{3-}$	$\text{P}_{\text{общ}}$	$\text{NH}_2\text{OH}$ , мкг N/л
июль 2003г.							
2	0.072	0	0.004	2.22	0.026	0.143	0
3	0.081	0	0.002	2.86	0.013	0.162	0
4	0.072	0	0.004	2.68	0.014	0.124	0
5	0.068	0	0.003	2.52	0.015	-	0
7	0.066	0	0.114	2.74	0.012	0.182	0
8	0.083	0	0.006	2.69	0.015	0.182	0
9	0.091	0	0.005	2.74	0.022	0.162	0
10	0.072	0	0.005	2.03	0.012	0.132	0
11	0.096	0	0.004	1.26	0.014	0.082	0
12	0.142	0	0.004	1.03	0.007	0.048	0
14	0.110	0	0.003	1.08	0.012	0.054	0
15	0.064	0	0.008	2.14	0.017	0.092	0
октябрь 2003г.							
2	0.049	0	0.001	1.18	0.013	0.074	11
3	0.057	0	0.002	1.48	0.012	0.070	17
4	0.047	0	0.002	1.42	0.013	0.074	6
5	0.057	0	0	1.62	0.012	0.114	2
7	0.053	0	0	1.63	0.015	0.088	0
8	0.053	0	0	1.55	0.015	0.074	0
9	0.045	0	0	1.38	0.014	0.094	0
10	0.091	0.003	0.030	1.16	0.042	0.070	3
11	0.057	0.002	0.011	0.96	0.027	0.070	5
12	0.051	0	0.001	1.50	0.010	0.070	6
14	0.068	0	0.001	1.30	0.012	0.076	5
15	0.057	0	0.001	1.51	0.012	0.075	12

Продолжение таблицы 16.

№ ст.	$\text{NH}_4^+$	$\text{NO}_2^-$	$\text{NO}_3^-$	$\text{N}_{\text{общ}}$	$\text{PO}_4^{3-}$	$\text{P}_{\text{общ}}$	$\text{NH}_2\text{OH}$ , мкг N/л
Май 2004г.							
2	0.020	0	0.001	0.78	0.007	0.040	0
3	0.015	0	0.001	0.81	0.006	0.040	0
4	0.023	0	0.002	0.70	0.004	0.064	0
5	0.024	0	0.001	0.88	0.008	0.046	2
7	0.047	0	0.013	1.08	0.021	0.069	1
8	0.024	0	0.002	0.91	0.006	0.050	0
15	0.021	0	0.001	0.71	0.004	0.042	4
Июль 2004г.							
2	0.043	0	0.002	1.07	0.22	0.180	0
3	0.043	0	0.003	1.79	0.008	0.110	0
4	0.047	0	0.002	1.72	0.009	0.100	0
5	0.047	0	0.002	1.97	0.010	0.135	0
7	0.052	0	0.002	1.89	0.010	0.120	0
8	0.045	0	0.002	1.79	0.007	0.110	0
9	0.051	0	0.002	1.61	0.012	0.112	0
10	0.047	0	0.002	1.53	0.010	0.090	1
11	0.043	0	0.003	1.32	0.014	0.105	0
12	0.058	0	0.002	0.99	0.025	0.086	2
14	0.041	0	0.003	1.46	0.015	0.090	2
15	0.047	0	0.001	1.97	0.010	0.105	3
Октябрь 2004г.							
3	0.032	0	0.001	1.62	0.010	0.115	0
4	0.036	0	0	1.48	0.007	0.105	0
5	0.032	0	0.001	1.51	0.010	0.120	2
6	0.036	0	0	1.69	0.007	0.140	1
7	0.036	0	0.003	1.71	0.010	0.140	2
8	0.032	0	0	1.47	0.007	0.095	1
15	0.032	0	0	1.55	0.008	0.095	3

Небольшие отличия в содержании неорганических азотсодержащих компонентов в озерной воде в 2002-2004 гг. от соответствующих данных 10-тилетней давности возможно связаны с перестройкой экосистемы в результате начатой в промежутке между исследованными годами промышленной добычи из озера ценного удобрения – сапропеля. В результате подобных мероприятий из вскрытых относительно глубоких горизонтов донных отложений в воду могут поступать большие количества биогенов.

Таким образом, в период открытой воды в хорошо аэрируемом мелководном гипертрофном оз. Неро наиболее интенсивные процессы, приводящие к образованию ГА, приурочены к предледоставному периоду, что представляется вполне естественным. Денитрификация, по всей вероятности, не играет существенной роли в пополнении водных масс этого водоема гидроксиламином, поскольку исходный продукт для прохождения этого процесса – нитраты, полностью потребляются фитопланктонными организмами. Денитрификация может иметь существенное значение в зимний период, когда на полгода вся акватория покрывается льдом и почти во всей водной толще формируются анаэробные условия.

Существенно иной характер носит распределение во втором по площади и первом по объему воды в Ярославской области озере Плещеево. Площадь зеркала озера 51.5 км<sup>2</sup>, наибольшая глубина – 24.3 м, средняя – 11.2 м, объем воды – 582 млн. м<sup>3</sup>. Температурный режим озера характеризуется медленным прогревом водной толщи после вскрытия льда, кратковременной весенней гомотермией, продолжительным и устойчивым летним расслоением вод, растянутой осенней гомотермией и обратной стратификацией температуры зимой. Кислородный режим в общих чертах следует температурному. В периоды весенней и осенней гомотермии содержание кислорода практически неизменно от поверхности до дна и в среднем равно 10-12 мг О/л. В периоды зимней и особенно летней стратификации распределение кислорода становится неравномерным. Начало формирова-

ния анаэробного гипolimниона приходится на вторую половину июня, а к концу августа – началу сентября его мощность достигает максимума [96]. Химическая стратификация наблюдается и по биогенным элементам и органическому веществу. В отдельные годы при длительной теплой погоде осенью (октябрь - ноябрь) отмечается повторное расслоение водных масс [15].

Измерения ГА проведены нами как зимой, так и в период сильно развитой стратификации по температуре и кислороду (конец августа). Они показывают, что в зимний период (январь) в оз. Плещеево ГА отсутствовал по всей глубине, несмотря на наличие ярко выраженной кислородной стратификации (табл. 17). Не обнаруживался ГА в литеральной зоне озера, а также в речных водах, как питающих озеро (р. Трубеж), так и стоке из него (р. Векса).

Летом максимальная концентрация ГА приурочена к металимниону, более того, к самой нижней части этого слоя, где концентрация растворенного кислорода близка к нулю (рис. 16).

Таблица 17. Содержание ГА в оз. Плещеево в подледный период (январь 1996 г.).

Глубина, м	O <sub>2</sub> , мг/л	ГА, мкг/л
Центр озера, 0	16.0	0
5	15.6	0
10	15.0	0
15	11.4	0
20	8.0	0
Дно	3.6	0
Литораль, 3	-	0
Р. Трубеж, 0.5	-	0
Р. Векса, 0.5	-	0
Родник	-	0

Именно в микроаэрофильной зоне наиболее интенсивно проходят микробиологические процессы денитрификации, сопровож-

дающиеся образованием более восстановленных соединений азота по сравнению с нитратами. В эту зону из бескислородного гипolimниального слоя диффундируют и ионы аммония, образовавшиеся при разложении (аммонификации) органических веществ. Имеющие высокий энергетический потенциал аммонийные ионы, попадая в окислительную среду, начинают подвергаться нитрификации, тем самым, пополняя пул нитритов и ГА. В выше лежащих слоях воды неорганические формы азота, в том числе и нитраты, используются, главным образом, фитопланктонными организмами в качестве конструкционного материала для построения своих клеток. Поэтому в эпилимнионе мы наблюдаем практическое отсутствие ГА. В гипolimнионе содержание ГА также близко к нулю. Причина – отсутствие бактерий-нитрификаторов в анаэробной зоне.

Обнаруженное нами абсолютное содержание ГА в оз. Плещеево в несколько раз выше, чем в японском оз. Кизаки-ко, хотя по морфометрии и кислородному режиму они довольно близки. Причины таких различий, очевидно, кроются в естественных различиях химического состава воды озер, состава и численности гидробионтов, а также в сроках наблюдений, которые существенным образом могут сказаться на масштабах и интенсивности процессов. В частности, во второй декаде сентября 2001 г. в оз. Плещеево мы не обнаружили и следов ГА, несмотря на то, что сохранялась глубокая стратификация по кислороду. Необходимо заметить, что в это же время во всей толще воды отсутствовал и сероводород, наличие которого мы отмечали в гипolimнионе в период предыдущих исследований по распределению ГА.

Подчеркнем еще раз, что такие масштабные процессы трансформации азотсодержащих соединений, как нитрификация и денитрификация, приводящие к образованию токсичного гидроксиламина, наиболее развиты в таких озерных экосистемах, которые в силу своей природы подвержены глубокой химической, особенно кислородной, стратификации. Наиболее интенсивно

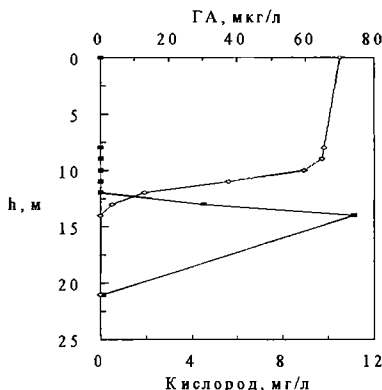


Рис. 16. Вертикальное распределение гидроксиламина (темные точки) и кислорода в оз. Плещеево в период наиболее развитой стратификации водных масс (август).

процессы осуществляются в зонах, содержащих незначительное количество кислорода и близких к ним. Здесь бывают сосредоточены и наибольшие содержания ГА.

Данные, полученные нами для 7-ми озер, расположенных в Вязниковском районе Владимирской области (Центральная Россия), подтверждают это положение. Рассматриваемые озера относятся к категории малых, бессточных водоемов карстового генезиса (табл. 18). Это разнотипные водоемы, различающиеся по своим гидрохимическим и гидрофизическим характеристикам [22]. Все они в той или иной степени подвержены температурной и химической стратификации. Пробы воды были отобраны во время развитой стратификации водных масс (август) на станциях, расположенных в наиболее глубоководных участках.

Таблица 18. Некоторые морфометрические, гидрохимические и трофические характеристики исследованных озер [13, 22, 50, 86, 96]. (\* Г – гипертрофный, Э – эвтрофный, М – мезотрофный, О – олиготрофный; Ж – жесткость, Цв - цветность).

Название	Площадь, га	Глубина, м	Длина, км	Ширина, км	Цв, град	Ж, мг-экв/л	Трофия
Неро	5700	4.5	13.2	8.3	30	3-6	Г
Плещеево	5150	24.3	9.6	6.7	20	3.30	М
Юхор	80	11	3.0	0.5	28	1.93	Э
Кшара	132	18	4.0	1.0-1.2	35	1.08	М
Санхар	119	20	3.0	0.5-1.0	35	0.86	М
Гарава Бол.	20	9	1.0	0.5	65	0.21	О-М
Гарава Мал.	17	18	0.5	0.3	30	0.19	М
Светленькое	10	12	-	-	15	0.16	М
Поридово	28	3	-	-	325	0.71	Э

Содержание ГА в них варьирует в значительных пределах от 0 до 35 мкг N/л (табл. 19). В озерах Светленькое, Большие Гаравы и Поридово максимальные концентрации ГА встречаются в придонных слоях, где концентрация кислорода составляет 0.46 – 3.60 мг/л; в оз. Малые Гаравы – в среднем слое воды на глубине 4.5 м. В озерах с развитым анаэробным гипolimнионом (Кшара, Юхор, Санхар) максимальные концентрации ГА приурочены к микроаэрофильным зонам (рис. 17). Причины, приводящие к его локализации в зонах с невысоким содержанием кислорода, кратко изложены выше.

Таблица 19. Вертикальное распределение азотсодержащих компонентов в озерах Владимирской области.

Глубина	NH <sub>2</sub> OH	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Общ	T	O <sub>2</sub>
м	мкг N/л					°C	мг/л
Кшара							
0	0	15	0	6	350	23.2	8.57
1	-	-	-	-	-	23.0	-
2	-	-	-	-	-	22.8	8.59
3	-	-	-	-	-	22.6	-
4	0	47	0	8	-	20.6	-
4.5	-	-	-	-	-	-	4.16
5	0	-	0	9	-	16.2	1.53
6	1	-	0	22	-	13.0	1.26
7	5	-	0	7	-	10.4	0.1
8	3	-	0	10	-	8.8	-
9	1	-	0	18	-	8.2	-
10	0	-	-	-	-	8.2	-
11	0	780	0	22	-	8.0	-
Светленькое							
0	0	15	0	0	240	23.4	8.79
4	0	47	0	7	-	19.8	-
5	0	-	0	9	-	16.4	8.17
6	0	-	0	10	-	13.2	-
6.5	0	-	0	16	-	-	-
7	2	-	0	25	-	9.8	2.51
дно	1	310	0	17	-	6.6	1.46
Поридово							
0	3	51	0	18	1090	24.4	7.02
1	3	-	0	27	-	24.4	6.11
2	5	-	0	12	-	21.2	1.12
3	16	-	0	25	-	18.8	0.42



Продолжение таблицы 19.

Глу- бина	NH <sub>2</sub> OH	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Нобш	Т	O <sub>2</sub>
Б.Гаравы							
0	0	23	0	18	320	24.8	8.3
3	0	-	0	11	-	23.2	7.22
4	0	-	0	8	-	20.4	-
5	1	-	0	7	-	17.2	5.62
6	1	-	0	19	-	12.0	-
7	2	-	0	10	-	10.0	4.85
дно	5	-	0	12	-	8.4	3.6
М.Гаравы							
0	1	23	0	5	350	25.0	8.85
2	-	-	-	-	-	23.4	-
3	-	-	-	-	-	21.0	7.89
4	2	-	0	9	-	17.6	5.81
4.5	5	-	0	9	-	-	-
5	5	-	0	44	-	13.8	5.81
5.5	4	-	0	32	-	-	-
6	3	-	0	33	-	9.6	-
6.5	4	-	0	33	-	-	-
7	1	-	0	40	-	8.4	-
9	1	-	-	-	-	6.0	4.98
дно	1	-	0	33	-	5.2	4.15
Юхор							
0	4	24	0	8	1800	25.8	18.3
1	3	-	0	12	-	23.4	18.4
2	8	900	1	9	-	18.4	4.79
2.5	10	-	0	15	-	-	-
3	9	-	0	4	-	11.4	1.94
3.5	28	69	0	4	-	-	-
4	35	-	0	4	-	8.8	0
5	10	-	0	4	-	7.6	-
6	12	1760	0	4	-	7.4	-
8	7	1490	0	5	-	7.4	-
9	4	900	0	4	-	7.2	-
дно	5	980	0	2	-	7.0	-

Продолжение таблицы 19.

Глубина	$\text{NH}_2\text{OH}$	$\text{NH}_4^+$	$\text{NO}_2^-$	$\text{NO}_3^-$	Нобщ	T	$\text{O}_2$
Санхар							
0	1	460	0	2	950	22.8	9.55
1	-	-	-	-	-	23.2	9.55
3	3	170	0	8	-	22.8	-
4	2	45	0	6	-	19.8	4.71
5	6	136	0	4	-	15.0	0.64
5.5	9	-	0	10	-	-	-
6	24	94	0	14	-	12.2	0.01
6.5	18	143	0	26	-	-	-
7	8	311	0	27	-	9.0	-
7.5	5	-	0	21	-	-	-
8	7	350	1	18	-	7.2	-
9	7	240	2	15	-	6.4	-
11	4	450	0	11	-	6.0	-
12	5	-	0	10	-	5.8	-
13	7	700	0	4	-	5.6	-
14	6	770	0	3	-	5.2	-
14.5	4	770	0	4	-	-	-
15	5	730	0	4	-	5.8	-
15.5	0	840	0	3	-	-	-
дно	2	650	0	3	-	-	-

Хорошо известно, что большую роль в создании анаэробных и микроаэрофильных зон в естественных водоемах играют микробиологические процессы деструкции органических соединений, сопровождающиеся интенсивным потреблением кислорода [13, 95]. В свою очередь, в микроаэрофильных зонах усиливаются процессы нитрификации и денитрификации и появляется ГА. Эти обстоятельства указывают на возможность связи между содержанием органических веществ и ГА. Было показано, что в

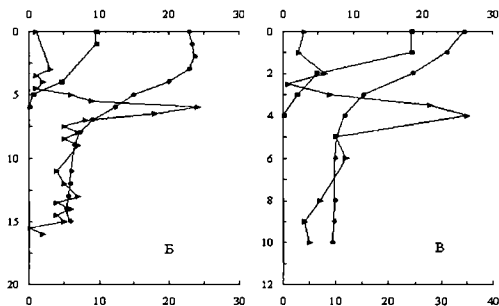


Рис. 17. Распределение гидроксилamina в озерах Владимирской области.

Б – Санхар, В – Юхор. По оси ординат – глубина; по основной (нижней) оси абсцисс – содержание гидроксилamina в мкг N/л, по дополнительной оси абсцисс – температура, °C и содержание кислорода в мг/л.

—●— температура, —■— кислород, —▲— ГА

сильно эвтрофированных рыбоводных прудах продукция ГА пропорциональна численности клеток первичных продуцентов [140], а значит, опосредованно, и содержанию свежесинтезированных лабильных органических веществ. Однако высокое общее содержание органических веществ не всегда может явиться причиной создания зон с пониженным содержанием кислорода, поскольку относительно стабильная гумусовая компонента принимает лишь слабое участие в окислительно-восстановительных реакциях. Такая ситуация характерна для оз. Поридово, в котором наличие большого количества органических веществ (цветность 325 градусов, табл. 18), в силу их гумусовой природы, мало сказывается на кислородном режиме водоема и, тем самым, локализации ГА на какой-либо глубине.

Кроме озер исследовалось содержание гидроксилamina и в водохранилищах. В частности, в водохранилище Седлице (Чехословакия) ГА был обнаружен во многих пробах, а максимальная концентрация достигала 95 мкг N/л. Значительные количества ГА встречались как в анаэробных, так и в аэробных условиях. Высказано мнение, что ГА в аэробной среде появляется в результате деятельности нитрифицирующих бактерий [191].

Нами были проведены наблюдения за содержанием ГА в ряде водохранилищ Волжского каскада - Рыбинском, Горьковском и Чебоксарском [11].

Один из крупнейших водоемов волжского каскада - Рыбинское водохранилище - расположено в обширной Молого - Шекснинской низине. Площадь зеркала составляет 4550 км<sup>2</sup>, средняя глубина 5.6 м. Заполняется тремя потоками качественно различных вод, формирующихся на водосборах разной степени агротехнической освоенности [24, 73]. Наблюдениями были охвачены 6 стандартных станций, характеризующих его основные водные массы (рис. 18).

Наблюдения проведены в разные годы и различные сезоны. Анализировались поверхностные (0.5 м) пробы.

Заполнение Рыбинского водохранилища моложскими, шекснинскими и волжскими водами, формирующимися на качественно разных водосборах в совокупности с особенностями его морфометрии и различиями в показателях водообмена отдельных акваторий, определяет пространственную неоднородность и временную изменчивость распределения многих химических компонентов, в том числе форм азота [24, 43]. Однако, как показали наши исследования в 2001-2004 гг. (табл. 20), это не сказывается на характере распределения ГА. Максимальные концентрации, достигающие до 5 мкг N/л, могут быть приурочены как к наиболее загрязненному Волжскому плесу (ст. 1), где общая концентрация биогенных элементов в течение всего периода наблюдений была в 1.5-2 раза выше, чем в остальных водных массах, так и к относительно чистому Центральному плесу (ст. 4).



Рис. 18. Схема станций отбора проб на Рыбинском водохранилище.

В среднем содержание ГА в водохранилище было близким к 2 мкг N/л, что меньше ПДК этого токсического соединения в несколько раз. По последним данным рыбохозяйственное ПДК солянокислого гидроксиламина составляет 0.15 мг/л или в пересчете на азот - 16 мкг N/л [8].

Определенные тенденции в изменениях содержания ГА, в числе других азотистых соединений, намечаются в сезонном аспекте. Они, по всей вероятности, связаны со структурной перестройкой биоценоза во времени. К лету, при сохранении Нобш на уровне весеннего периода, содержание нитратов, основной минеральной формы, постепенно снижается. Одновременно

Таблица 20. ГА и другие азотсодержащие компоненты в водах Рыбинского водохранилища в 2004 г. (1 – Коприно, 2 – Молога, 3 – Брейтово, 4 – Наволок, 5 – Измайлово, 6 – Средний Двор), мкг N/л.

№ ст.	NH <sub>2</sub> OH	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Нобщ	NH <sub>2</sub> OH	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Нобщ
	6.05.04					20.07.04				
1	0	80	5	830	1310	4	130	14	180	-
2	1	70	7	960	1570	2	90	9	180	-
3	2	70	3	500	1340	4	70	18	280	-
4	0	50	0	440	950	2	70	7	310	-
5	0	60	0	300	1020	1	70	5	330	-
6	2	40	5	540	960	1	110	8	330	-
	19.05.04					4.08.04				
1	1	70	7	800	1290	-	-	2	30	1240
2	3	40	8	700	1250	-	80	8	180	1010
3	0	50	3	420	950	-	90	7	10	1260
4	1	40	4	410	1000	-	60	4	220	990
5	1	30	2	490	1010	-	70	4	240	1030
6	1	30	3	490	950	-	80	6	240	1130
	8.06.04					17.08.04				
1	3	30	18	520	1150	6	180	16	170	-
2	1	30	3	160	1060	3	180	7	130	-
3	1	30	3	330	980	5	50	18	150	-
4	0	30	5	350	960	1	40	2	230	-
5	2	30	6	450	1160	1	40	2	300	-
6	0	30	1	340	1000	2	40	2	300	-
	22.06.04					7.09.04				
1	5	50	23	330	-	4	60	5	240	1070
2	2	60	14	330	-	3	80	5	120	890
3	3	50	11	300	-	3	50	4	100	1100
4	3	50	9	300	-	6	40	20	90	1000
5	3	50	12	380	-	4	40	7	220	1080
6	2	60	8	290	-	4	50	6	190	1000

Продолжение таблицы 20.

№ ст.	NH <sub>2</sub> OH	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	№общ	NH <sub>2</sub> OH	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	№общ
	8.07.04					29.09.04				
1	3	120	14	180	910	3	80	4	260	-
2	5	80	22	220	1170	3	80	3	190	-
3	2	70	10	260	1170	-	-	-	-	-
4	3	50	18	320	980	4	40	3	200	-
5	5	50	20	330	990	1	40	1	210	-
6	4	50	13	310	980	0	50	2	160	-

происходит увеличение концентраций ГА и нитритов, указывая на возросшую интенсивность процессов нитрификации почти во всех плесах Рыбинского водохранилища. Понижение температуры воды осенью приводит к доминированию деструкционных процессов и тем самым повышению доли неорганических соединений в общей массе БЭ. Однако это не приводит к росту содержания ГА. Отсутствие анаэробных и микроаэрофильных зон в течение почти всего года свидетельствует о том, что основной причиной появления ГА в водохранилище могут быть процессы нитрификации, поскольку бактериальная денитрификация в этих условиях должна практически отсутствовать. Статистическая обработка данных таблицы 15 не выявляет значимых связей содержания ГА с другими формами азота.

Долинного типа Горьковское водохранилище с площадью зеркала 1590 км<sup>2</sup> и средней глубиной 5.5 м заполняется в основном трансформированными водами Центрального плеса вышележащего Рыбинского водохранилища, что и определяет близость химического состава их основных водных масс [24].

Чебоксарское водохранилище – следующая ступень Волжского каскада имеет площадь зеркала 1270 км<sup>2</sup> и среднюю глубину 4.7 м [57]. Впадение двух крупных рек (Ока и Сура), воды которых формируются в условиях, отличных от условий Верхней Волги, определяет существенную пространственную неоднородность химического состава вод. На Горьковском и Чебоксар-

ском водохранилищах станции отбора проб были выбраны таким образом, чтобы иметь возможность учесть влияние крупных промышленных центров на содержание ГА и других азотсодержащих компонентов (рис. 19). Гидрохимические съемки были приурочены к летней межени.

Преимущественное аккумулярование стока с оподзоленных и заболоченных почв лесной зоны определяет относительную бедность вод Горьковского водохранилища биогенными элементами. Общие содержания азота и фосфора, определенные персульфатным методом, не выходят соответственно за пределы  $1\text{мгN/л}$  и  $0.07\text{ мгP/л}$  (табл. 21). Существенные различия наблюдаются в пространственном распределении отдельных форм биогенов. Верхняя часть речного участка, на протяжении  $100\text{км}$  (вплоть до Ярославля, ст.1-3) сохраняет уровень содержания нитратов, присущих водам Рыбинского водохранилища. У Красного Профинтерна (ст. 5) происходит скачкообразный рост содержания нитратов в 2-3 раза. При сохранении других компонентов химического состава на примерно одинаковом уровне эти изменения могут быть обусловлены поступлением значительных количеств сточных вод преимущественно бытового характера, содержащих, как правило, повышенные концентрации ионов аммония, нитратов и фосфатов. В дальнейшем города Кострома, Плес, Кинешма (ст.7, 8, 10) способствуют пополнению речного участка Горьковского водохранилища неорганическими соединениями азота в нитратной форме. Концентрации ГА малы, только в районе Костромы они несколько выше. Здесь значительно выше и общая численность бактерий число активно вегетирующих клеток фитопланктона, больше и взвешенного вещества. В самом начале озерного участка - Юрьевском расширении (ст. 11,12) - происходит еще более резкий (более чем в 10 раз) рост концентрации нитратов, что указывает на возможное существование точечного источника загрязнения или сильно развитые процессы бактериальной нитрификации. Несмотря на



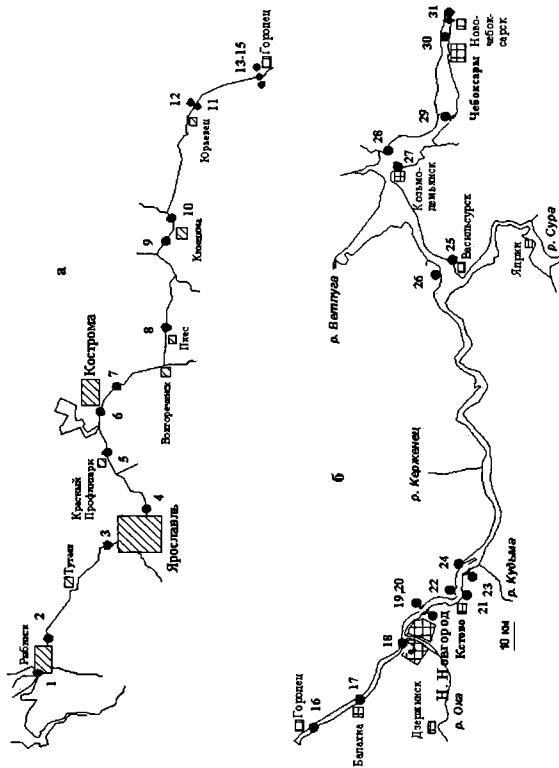


Рис. 19. Схема станций отбора проб на Горьковском (а) и Чебоксарском (б) водохранилищах.

Таблица 21. Содержание ГА, других азотсодержащих компонентов и общего фосфора в Горьковском водохранилище в летнюю межень 2001 г., мкг N/л, мкг P/л.

№ ст.	NH <sub>2</sub> OH	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N общ.	P общ.
1	2	4	5	760	40
2	2	3	9	770	40
3	1	8	7	770	50
4	1	3	6	1020	70
5	3	4	16	870	60
6	5	5	17	860	60
7	5	7	23	880	60
8	1	8	25	840	70
9	2	4	35	820	60
10	3	4	34	930	60
11	3	12	272	880	70
12	3	14	214	930	70
13	2	8	75	930	60
14	2	9	85	840	60
15	2	11	74	860	50

то, что в пользу последней версии свидетельствуют повышенные концентрации промежуточного продукта этого процесса - нитритов, нельзя забывать о приуроченности нитрификационных процессов в водоемах к более позднему времени года, которое связано с резким понижением температуры и массовым отмиранием водорослей. Снижение концентрации нитратов и ГА в 2-3 раза в нижерасположенных пунктах, по всей вероятности, является результатом разбавления водами местного стока.

Невысокое содержание нитритов в Горьковском водохранилище является косвенным признаком низкой активности нитрификационных процессов в период летней межени, вследствие чего средняя концентрация ГА не превышает 2-3 мкг N/л (табл.

В верхнем речном участке Чебоксарского водохранилища (ст. 16-18) содержание ГА в целом несколько выше соответствующих средних величин в нижней озерной части Горьковского водохранилища (табл. 22).

После впадения р. Оки (второй участок) менее минерализованные «волжские» воды, поступающие из Горьковского водохранилища, приближаются к левому берегу и на большом расстоянии сохраняют свои гидрохимические характеристики. Более минерализованные «окские» воды почти не перемешиваются с «волжскими» вплоть до с. Безводное (ст. 23). Загрязненная Ока дает значительную биогенную, в основном азотную нагрузку на средний участок водохранилища. На правобережных станциях (ст. 19 - ниже биологических очистных сооружений Нижнего Новгорода и ст. 21 - ниже г. Кстова) содержание нитратного азота в окском потоке в 3-5 раз выше, чем на соответствующих левобережных станциях, характеризующих волжский поток; повышено здесь содержание и общего азота. На этом же участке (ст.21) зафиксирована и максимальная концентрация ГА для исследованных водохранилищ (табл. 4). Заметным отличием вод нижнего участка (ст. 25-31) от вышележащих акваторий является появление ниже г. Козьмодемьянска (ст. 27) значительных концентраций нитритов, которые могут быть обусловлены как интенсификацией естественных процессов нитрификации, так и специфическим загрязнением. Максимальная концентрация ГА на нижнем участке приурочена к устью р. Суры, несущей загрязненные воды (ст. 25). Ниже по течению содержание ГА падает до величин, характерных для водохранилища в целом.

Таким образом, можно полагать, что в хорошо аэрируемых мезотрофных волжских водохранилищах процессы, ведущие к продукции и деструкции ГА, практически сбалансированы.

Материалы по содержанию и местам локализации ГА в озерах и водохранилищах Центральной части России обобщены в работе [20].

Таблица 22. Содержание ГА, других азотсодержащих компонентов и общего фосфора в Чебоксарском водохранилище в летнюю межень 2001 г., мкг N/л.

№ ст.	NH <sub>2</sub> OH	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N общ.	P общ.
16	5	10	110	860	50
17	7	12	89	890	60
18	2	4	54	1030	50
19	4	12	388	1650	190
20	6	5	68	1090	70
21	10	29	355	1480	170
22	4	7	80	1000	60
23	4	6	131	1280	100
24	2	6	71	1020	60
25	7	15	212	1090	120
26	3	13	189	950	110
27	4	36	202	910	120
28	4	53	172	930	120
29	3	59	220	1040	140
30	5	47	188	950	110
31	1	20	271	1020	120

Имеется несколько опубликованных работ по измерению растворенного ГА в океанических водах, типа Речного устья Yaquina в Штате Орегон [115], прибрежной лагуны в Калифорнии [116] и континентального шельфа у штата Орегон [110]. Гидроксиламин обнаружен и в наиболее крупных водоемах планеты – океанах. На континентальном шельфе в 14 милях от побережья штата Орегон концентрация ГА доходила до 7.8 нМ (рис. 20). Этот максимум на профиле вертикального распределения проявлялся на глубине около 5 м при содержании кислорода 303 мкМ. С увеличением глубины концентрация резко падала и, на горизонтах ниже 70 м, ГА не обнаруживался вовсе. Ниже 100 м содержание закиси азота сохранялось почти на неизменном уровне. Отсюда можно сделать вывод, что на больших

глубинах мала вероятность обнаружить измеримые количества ГА.

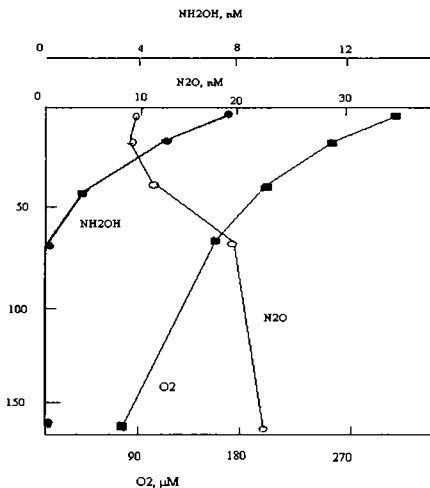


Рис. 20. Вертикальное распределение гидроксилamina, закиси азота и кислорода у побережья штата Орегон. Общая глубина на станции – 185м. [110].

В то же время необходимо заметить, что в Черном море и океанских впадинах, имеющих анаэробную зону, на границе между оксичной и аноксичной зонами можно ожидать наличия этого продукта.

Исследовано вертикальное распределение растворенного  $\text{NH}_2\text{OH}$  на 10 станциях в западной, южной и центральной частях Балтийского моря [126]. Балтийское море состоит из ряда бассейнов (Аркона, Борнхольм, западный и восточный Готландские заливы) с ограниченным горизонтальным водным обменом. Пресноводные реки и с перерывами вливающиеся соленые воды Северного моря приводит к поверхностному слою с более низкой соленостью, и большей соленостью в более глубоко лежащих слоях и придонных водах. Постоянный галоклин между этими слоями ограничивает вертикальный обмен и это является причиной для развития застойных глубоких вод, сопровождающихся истощением кислорода и накоплением сероводорода. Приводим классическую картину вертикального распределения ГА, характерному для вод залива Аркона (рис. 21). На части других станций распределение растворенного  $\text{NH}_2\text{OH}$  было сложным из-за внутреннего взаимодействия больших водных масс мелких западной и южной частей Балтийского моря с центральной частью, имеющих различия в химическом составе вод. Авторы приходят к заключению, что нитрификация является главным источником  $\text{NH}_2\text{OH}$ , тогда как анаэробное окисление аммония, вероятно, было незначительным. Характер распределения  $\text{N}_2\text{O}$  по вертикали в водах океанской впадины Карьяко типичен для этого региона и указывает как на его продукцию, так и потребление, отображая также чистый поток в атмосферу [113]. Общая картина распределения ГА в этой глубоководной впадине очень похожа на те, о которых сообщалось для подобных регионов; концентрации слабо повышаются в приповерхностных водах и, несомненно, наивысшая продукция присуща началу оксиклина.

Эксперименты по определению скоростей деструкции ГА дали непостоянные результаты, обусловленные, по мнению авто-

ров статьи, преимущественно биологической активностью. Тем не менее период полураспада ГА в этих водах составляет порядка часов и такое поведение, по-видимому, мало связано с глубиной.

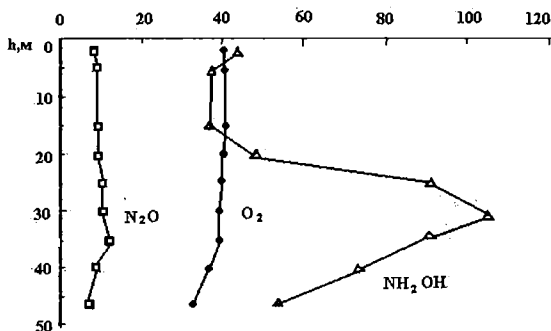


Рис. 21. Вертикальное распределение ГА (нМ/л), азотной кислоты (нМ/л) и кислорода (мкМ/л) в центральной части Балтийского моря (залив Аркона) в 2003 г.

Представлены данные [143], которые свидетельствуют в пользу гипотезы, что мало азотной кислоты транспортируется реками как в озера, так и из них. Скорее всего он генерируется или потребляется *in situ*. Однако транспорт биогенных элементов в озера и из них, вероятно влияет на продукцию и потребление внутри озер, например, нитраты и ОВ в поверхностном и городских стоках. Величина обмена N<sub>2</sub>O между атмосферой и озерами, рассчитанная по двум моделям, связана со степенью насыщения поверхностной воды. Пределы колебания потоков примерно в 10

раз выше, чем установлено для вод открытого океана, т.е.  $\pm 4$   $\mu\text{кг}/\text{см}^2$  сек)

Образующиеся в озерах и морях концентрации ГА порядка 10-20  $\mu\text{кг N}/\text{л}$  и ниже вряд ли могут оказывать решающее влияние на численность и интенсивность роста большинства других организмов. Опытным путем было показано, что изолированная из озера активно нитрифицирующая бактерия *Aerobacter* sp. ингибировала развитие хлореллы. Это происходило в результате воздействия ГА, выделяемого бактериями во время окисления аммония или других восстановленных соединений азота. Хлорелла была чувствительна к концентрациям ГА ниже 240  $\mu\text{кг N}/\text{л}$  [102]. Поэтому считается вполне вероятным, что в эвтрофных водоемах нитрифицирующие микроорганизмы могут определять характер динамики популяции водорослей. Толерантность бактерий к ГА выше, чем у хлореллы: в общем случае для ингибирования бактерий в аэробных условиях требуются концентрации ГА свыше 1  $\text{мг}/\text{л}$ .

## **7. Трансформация и нахождение гидразина в природных водах.**

### **7.1. Трансформация гидразина в водных средах.**

При рассмотрении свойств гидразина было отмечено, что он является очень сильным восстановителем, благодаря чему термодинамически неустойчив и легко разлагается при нагревании до высоких температур, действии излучений, под влиянием различных катализаторов и окислителей. В то же время при обычных условиях растворы солей гидразина весьма устойчивы даже в присутствии кислорода. Водный раствор его сульфата – наиболее распространенного коммерческого препарата, настолько стабилен, что используется в анализе в качестве установочного вещества [7].

Поскольку ГН и его производные все более и более широко используются в промышленности, особенно в качестве топлива в авиации и антиоксиданта в процессах водоподготовки для тепловых энергетических установок, возрастает обеспокоен-



ность общества в связи с неизбежным попаданием его в окружающую среду, представляющим большую опасность для живых организмов. Одной из множества потенциальных проблем, возникающих в связи с возрастающим применением ГН, является установление механизмов его взаимодействия с природной водой и влияния на водные организмы. Уже на ранней стадии почти одновременно были опробованы два подхода к исследованию поведения ГН в водных средах. По одному из них изучалось влияние ГН на различные свойства воды – pH, растворенный кислород, щелочность, жесткость и т.п. Другой подход заключался в разработке быстрого и чувствительного метода определения ГН, использования его для анализа объектов окружающей среды с последующим выяснением устойчивости ГН в различных типах водных экосистем [170]. Следя за поведением добавленных 5 мг/л ГН в природные водные образцы качественно одинакового состава, но содержащих различные количества солей, полярографическим методом было установлено, что в водах с относительно высокой жесткостью (440 мг  $\text{CaCO}_3$ ) он разлагается существенно быстрее, чем в мягких (22 мг  $\text{CaCO}_3$ ); за 4 дня экспериментов из среды в первом случае исчезло около 50%, во втором – менее 10%. В одном из более длительных экспериментов к 13-му дню в жесткой воде оставалось только 18% введенного количества ГН. Хотя жесткость может вносить значительный вклад в деградацию ГН, другие факторы могут быть более важными для протекания этого процесса. Особенно сильное влияние могут оказывать прижизненные выделения гидробионтов, например, рыб.

В общем случае, как было показано с использованием 5-ти типов природных вод различного трофического статуса, характер кинетики деградации ГН не может определяться каким-либо одним параметром, а является суммой воздействий всех ингредиентов [170].

Обнаружено влияние ионной силы, меди, фосфатов, материала экспериментального сосуда на кинетику и масштабы разложения ГН в относительно концентрированных (10-500 мг/л) вод-

ных растворах [149]. Скорость окисления была слабой в дистиллированной воде, но резко возрастала при добавлении катализаторов, таких как ионы меди и фосфаты. Условия, которые ускоряли образование гидразил радикалов – первой стадии в окислении ГН, увеличивали долю одноэлектронных процессов, которые приводили к увеличению выхода аммония как одного из конечных продуктов разложения. При небольшом избытке кислорода, разложение ГН вначале шло быстро и стехиометрия реакции составляла 1:1 (рис. 22).

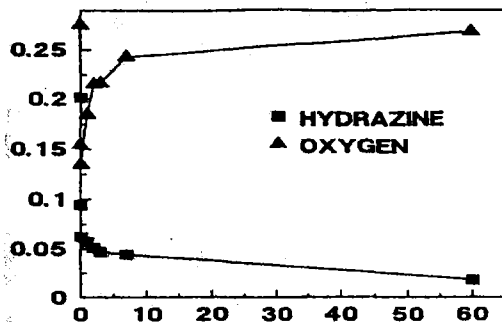


Рис. 22. Кинетика разложения гидразина при 25 °C. По оси ординат концентрация ГН в ммоль/л.

После начальной быстрой стадии концентрация снижалась довольно медленно даже при дополнительном насыщении экспериментального раствора воздухом. После 60 дней экспозиции оставалось еще 10% первоначально введенного количества ГН [149].

Ряд исследований по разложению сульфата гидразина культурами бактерий, выделенными из почв [137], а также всем почвенным микробным сообществом [155, 156] показали, что при относительно низкой исходной концентрации (10мкг/г) ГН не обнаруживался через 1.5 часа после начала эксперимента. На основании того, что в контрольных стерильных образцах оставалось менее 3% введенного вещества авторы полагают, что принципиальным фактором, определяющим исчезновение ГН из опытных сосудов, является автоокисление. Чем выше была исходная концентрация, тем больше времени требовалось на их разложение: 100 мкг/г ГН полностью распадалось в течение 1 суток, а 500 мкг/г – за 8 суток. Биологическая деградация была относительно малозначима; только около 20% вещества разлагалось этим путем. Было установлено, что ГН в концентрациях 10 - 100 мкг/г не сказывается отрицательным образом на идущих в микросомах нитрификационных процессах и только при 500 мкг/г нитрификация практически полностью подавляется. В воде рек, озер и прудов ГН был намного более устойчив, чем в почвах [155, 170]. Подавляющее большинство подобных исследований было проведено с высокими (десятки и сотни миллиграмм на литр) концентрациями ГН и содержат противоречивые экспериментальные данные и выводы.

Сказанное выше наталкивает на необходимость более детального изучения процессов деструкции ГН для установления общих закономерностей его трансформации при низких исходных концентрациях. Решение поставленной задачи требует проведения специальных экспериментов. Опыты нами ставились таким же образом, как и в случае исследования закономерностей разложения гидроксилamina. В серию 5-ти литровых бутылей из темного стекла из водоема отбирали пробы воды и в каждую из них вносили определенные количества сульфата ГН. Бутыли ставили в темное место и хранили при температуре  $20 \pm 2$  °C. Время от времени из них отбирали пробы на анализ, в которых определяли содержание ГН, нитритов, нитратов и ионов аммония, т.е. тех продуктов, которые могут указать на характер и ме-

ханизм течения процесса. Исходный состав микрофлоры соответствовал естественной природной популяции микроорганизмов Рыбинского водохранилища.

Важно было проверить, соответствуют ли условия проведения эксперимента нормальному течению процессов, происходящих в природных водах? В случае соблюдения этих правил, последовательность процессов в склянке должна быть следующей: в темновых условиях вначале должна происходить деструкция органических соединений, что применительно к азотсодержащей компоненте называется аммонификацией. Она сопровождается выделением в водную фазу аммиака (иона аммония). Богатые энергией аммонийные ионы немедленно подвергаются бактериальной атаке и начинается процесс нитрификации с последовательным образованием промежуточных продуктов – гидроксиламина, нитритов и, в итоге образуется наиболее окисленная форма – нитраты. В контрольных опытах (без введения ГН) процесс действительно следует указанному пути (рис. 23).

Принципиально аналогичным образом протекают процессы и в сосудах, в которые введен сульфат гидразина в количествах, даже существенно превышающих его ПДК (рис. 24). Существенным отличием является то, что нитрификация наступает значительно позже - после 35, а иногда и после 50 суток эксперимента. Это, очевидно, следствие гибели большей части бактерий-нитрификаторов непосредственно после введения ГН. Только после разрушения большей части токсиканта создаются условия для их развития. Таким образом подтверждается тезис о том, что ГН является опасным ядом для микрофлоры и его попадание в природные воды создает угрозу нарушения естественных процессов.

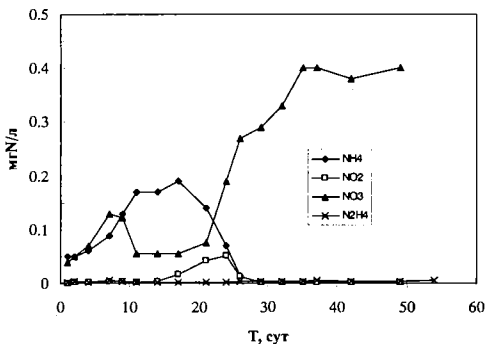


Рис. 23. Динамика содержания азотсодержащих соединений в контрольном опыте.

При отсутствии других токсикантов, на основании сроков наступления нитрификации, с известной осторожностью можно судить и о содержании ГН в опытных сосудах и о степени воздействия различных количеств ГН на экосистему. Вполне естественно, что чем меньше вещества введено в исходную систему, тем быстрее происходит его разложение (рис. 25).

Прямое применение кинетических уравнений 1-го, 2-го (и более высоких) порядков к экспериментальным данным по бактериальному разложению гидразина не приводит к удовлетворительным результатам (табл. 23). Мы уже отмечали, что подобные ситуации часто встречаются при анализе материалов, связанных с природными водами.

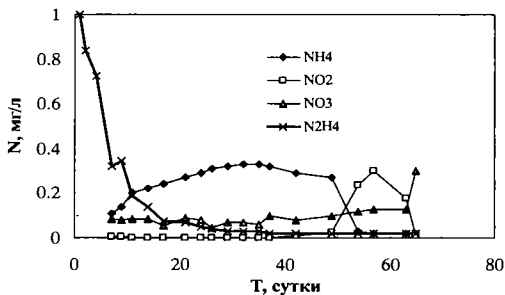


Рис. 24. Динамика азотсодержащих компонентов при разложении 1.0 мг N/л ГН.

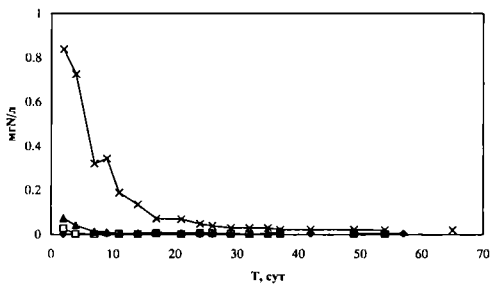


Рис. 25. Биохимическое разложение различных концентраций ГН.

Таблица 23. Измененне содержания неорганических азотсодержащих компонентов при биохимическом разложении ГН (1мгN/л).

сутки	$\text{NH}_4^+$	$\text{NO}_2^-$	$\text{NO}_3^-$	$\text{N}_2\text{H}_4$	$\text{K}_1$	$\text{K}_2$
1	-	-	-	1.0		
2	-	-	-	0.839	0.038	0.096
4	-	-	-	0.726	0.035	0.094
7	0.11	0.005	0.085	0.322	0.070	0.301
9	0.14	0.003	0.079	0.344	0.051	0.212
11	0.20	0.001	0.084	0.189	0.066	0.390
14	0.22	0.001	0.084	0.136	0.062	0.454
17	0.24	0.002	0.054	0.072	0.067	0.758
21	0.27	0.001	0.090	0.070	0.055	0.633
24	0.29	0.001	0.077	0.048	0.055	0.826
26	0.31	0.001	0.045	0.040	0.054	0.923
29	0.32	0.002	0.070	0.032	0.053	1.115
32	0.33	0.001	0.070	0.030	0.048	1.010
35	0.33	0.001	0.060	0.030	0.044	0.924
37	0.32	0.002	0.100	0.022	0.045	1.201
42	0.29	0.008	0.077	0.022	0.039	1.058
49	0.27	0.026	0.100	0.022	0.034	0.907
54	0.03	0.234	0.120	0.020	0.031	0.907
57	0.02	0.300	0.130	0.020	0.030	-
63	0.02	0.177	0.130	0.02	0.027	-
65	0.02	0.012	0.130	0.02	0.026	0.754

В таких случаях с успехом могут применяться кинетические уравнения, учитывающие неопределенность кинетики в начальный период процесса (см. раздел «Трансформация гидроксил-амина»). Однако в приложении к экспериментальным данным по биохимической трансформации ГН и такой подход не привел к желаемым результатам. В подобных сложных случаях можно

принять, что процесс разложения проходит в 2 стадии [16]. Например, при исследованиях сложного комплекса органических веществ полагают, что на первой стадии происходит разложение лабильной (легко потребляемой бактериями) части вещества, а на второй - относительно более трудно разлагаемой части. В нашем конкретном случае сильное замедление процесса деструкции ГН после 24 суток экспозиции может быть связано с происходящей перестройкой (сменой) видового состава микро-организмов. Часть из них быстро адаптируется к окружающей среде и может вовсе не принимать участия в разложении остатков исходного вещества или разлагать ее с существенно меньшими скоростями. С другой стороны в процессе разложения ГН могут образовываться некие промежуточные продукты, которые частично могут вступать в реакции с небольшими количествами имеющихся в природной водной среде различных химических соединений и образовывать дериваты, скорость деструкции которых существенно отличается от скорости основной реакции. Общий вид кривых разложения ГН имеет гиперболический вид и тем самым качественно отражает высказанные выше положения, по крайней мере, в первом приближении. Какова бы ни была истинная причина существенного замедления скорости бактериальной деструкции ГН, такой подход к анализу экспериментальных данных может позволить удовлетворительно описать кинетику процесса. Расчеты показывают, что какой бы порядок реакции не был принят для описания 2-й очень медленной стадии процесса разложения ГН, они, при верификации моделей, приводят к очень близким результатам. Поэтому для простоты здесь принимается, что процесс подчиняется реакции 0-го порядка, т.е. в единицу времени распадается одинаковое количество вещества. В таком случае процесс распада вещества на медленной стадии можно описать уравнением прямой линии вида  $y = (a + b \cdot x)$ .

Применение уравнения прямой, проходящей через две точки с известными координатами

$$(X_0 - X_1)/(X_2 - X_1) = (Y_0 - Y_1)/(Y_2 - Y_1),$$



позволяет вычислить значение отрезка, отсекаемого прямой на оси ординат  $У_0$ . В данном случае для дальнейших расчетов на кинетической кривой разложения  $1\text{мгN/л}$  ГН были взяты концентрации, соответствующие концентрациям на 65-е сутки (конец эксперимента) и концентрация в тот момент времени, где предположительно начинается 2-ая стадия процесса (26-е сутки). Проведя через эти точки прямую и, экстраполируя ее к нулевому моменту времени, было вычислено суммарное количество той части ГН, которое предположительно распадается с медленной скоростью с самого начала опыта. При этом неявно предполагается, что при внесении в опытные склянки ГН сразу взаимодействует с некоторыми компонентами природных вод и сразу образует дериваты относительно стойкие к бактериальному воздействию. Константа скорости  $k_0$  разложения этой части ГН при условии соответствия кинетики процесса нулевому порядку реакции, равна тангенсу угла наклона прямой, а ее численное значение составляет  $-0.000513 \text{ мг N/(л сутки)}$ .

Таким же образом рассчитываются концентрации медленно распадающейся части ГН, сохраняющиеся к любому заданному времени. Вычитая из ординат точек общей кинетической кривой соответствующие по времени ординаты точек, приходящиеся на медленно разлагающуюся часть, были получены данные для расчетов скоростей разложения «лабильной» (не вступившей во взаимодействие с компонентами среды) части ГН. Полученные таким образом точки хорошо ложатся на кинетическую кривую, описываемую уравнением химической реакции 1-го порядка, о чем ясно свидетельствует имеющая вид прямой линии полулогарифмическая анаморфоза этой кривой (рис. 26).

Средняя константа скорости  $k_1 = 0.071 \text{ сут}^{-1}$ , в соответствии с которой основная масса ГН при его исходной концентрации не превышающей  $1.0 \text{ мгN/л}$  подвергается распаду за 14 суток.

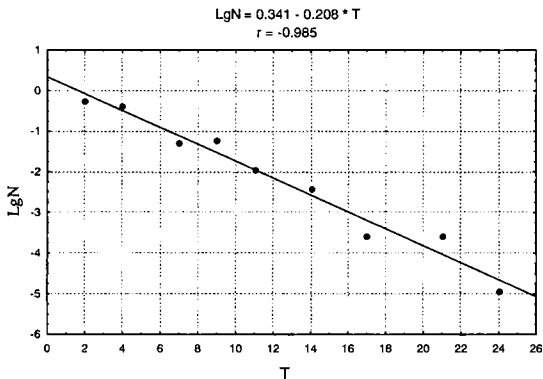


Рис. 26. Полулогарифмическая анаморфоза кинетической кривой разложения гидразина.

Таким образом, кинетика бактериальной деструкции ГН в природных водах может быть удовлетворительно описана только совокупностью 2-х уравнений; большая его часть разлагается в соответствии с уравнением химической реакции 1-го порядка. Разложение второй, существенно меньшей части, возможно, представляющей комплекс ГН с органическими веществами, при использовании уравнения реакции нулевого порядка имеет константу скорости  $5.1 \cdot 10^{-4}$  мг N/(л·сутки). В процессе биохимического распада ГН в аэробных условиях образуются как газообразные продукты типа  $\text{N}_2$  и  $\text{N}_2\text{O}$ , так и ионы аммония. Развитие нитрифицирующих бактерий, которые способны сами производить ГН, быстро подавляется при добавке этого соединения в экспериментальную среду. Опытами на смешанных и однородных культурах нитрифицирующих бактерий было показано, что уровни токсичности гидразина, монометилгидразина и несимметричного диметилгидразина достаточно низки, чтобы

препятствовать биологической обработке сточных вод, содержащих эти соединения. Причем токсичность монометилгидразина была выше токсичности ГН, которая, в свою очередь, была выше токсичности несимметричного диметилгидразина. Нитрифицирующими бактериями (*Nitrosomonas*) гидразин кометаболировался и трансформировался до молекулярного азота [137].

В докладе, составленном по заказу Департамента США по строительству очистных сооружений, отмечается, что в отсутствие  $\text{Cu}^{2+}$  (катализатор), разложение ГН происходит медленно. За пять дней разрушается менее чем 2% в дистиллированной, 40% в прудовой и 20% в морской воде (исходная концентрация ГН =  $10^{-4}$  моль). Добавление оксидов и твердых природных материалов (глина, почва) не приводило к изменениям скорости деградации. При добавлении меди, также как и при повышении температуры, интенсивность деструкции сильно возрастала. Изменения солености и ионной силы растворов слабо сказывались на протекании процесса. Максимальная скорость разложения достигалась при значениях pH между 8 и 9. Концентрации кислорода в пределах от 0.5 до 40 мг/л не давали измеримого эффекта [145].

Разложение ГН может происходить и в анаэробной среде. Не останавливаясь на деталях, отметим только, что в анаэробных условиях имеет место двухэлектронное окисление ( $\text{N}_2\text{H}_4 \rightarrow \text{N}_2\text{H}_2 \rightarrow \text{N}_2$ ). При биологической конверсии культурами анаэробных бактерий Апаттох 3 моля  $\text{N}_2\text{H}_4$  превращаются в 4 моля  $\text{NH}_4^+$  и 1 моль  $\text{N}_2$  [166]. Если в качестве акцептора электронов выступают нитриты, то 3 моля  $\text{N}_2\text{H}_4$  и 4 моля  $\text{NO}_2^-$  превращаются в 5 молей  $\text{N}_2$  со скоростью около 5.5 нМ/мин.

## 7.2. ГН в природных экосистемах.

Долгое время считалось, что основным путем поступления ГН и некоторых его производных в природные ландшафты является аэрогенное рассевание и разливы при падении ступеней отделяющихся частей ракет-носителей. Поэтому исследования про-

водились в закрытом режиме и материалы по содержанию ГН в природных объектах были доступны узкому кругу лиц. Начавшееся широкое применение ГН в качестве лучшего акцептора кислорода в системах водоснабжения ТЭЦ с неизбежным его попаданием в окружающую среду заставило общественность и исследователей обратить серьезное внимание на возникающие вследствие этого негативные проблемы. Тем не менее, имеется крайне мало опубликованных в открытой печати работ, где приводились бы конкретные величины содержания ГН в природных водах. Характерно мнение, что «Данные об уровнях гидразина в окружающей среде отсутствуют. Это объясняется тем, что скорость деградации этого вещества настолько высока, что измеримые уровни обычно не достигаются» [6].

Исследования специалистов Центра Атомной энергии США показывают, что в стоках атомных станций ГН мало и он довольно быстро подвергается разложению в естественных условиях [170]. Аналогичные материалы содержатся и в статье [149]. Скорость окисления ГН в воде зависит от множества природных факторов - его начальной концентрации, содержания растворенного кислорода и наличия определенных групп микроорганизмов. Сточные воды ряда других предприятий, входящих в состав Национального Агентства Аэронавтики и Космонавтики (NASA), содержат высококонцентрированные смеси гидразин/метилгидразин, лимонной кислоты, продуктов их взаимодействия и другие компоненты. Многократно проводились исследования по очистке этих вод от вредных примесей. В частности было установлено, что при аэробной биodeградации с помощью твердых носителей, иммобилизованных микроорганизмами, *Rhodococcus* sp. снижает концентрацию гидразина с 0.8 до 0.1 мг/мл за 7 дней, а метилгидразина с 10 до 2.5 мг/мл за 12 дней. Рассчитанная константа скорости в предположении подчинения процессов закономерностям реакции 1-го порядка составляла  $0.079 \text{ сут}^{-1}$  и  $0.046 \text{ сут}^{-1}$  соответственно. ГН легче поддается биodeградации, чем метилгидразин, несмотря на более длительную лаг-фазу [154].

Не был найден ГН в воде сильно загрязненной реки Харун (Индия), куда сбрасываются стоки сталелитейных заводов, производств минеральных удобрений и других промышленных предприятий [177], возможно из-за низкой чувствительности примененного метода определения ГН.

Газета «Независимая Молдова» от 22.03.2002г. сообщает, что «Концентрация ядовитых примесей в Дунае в два раза выше, чем в прошлом году. Специалисты, в частности, отмечают значительный рост содержания в речной воде гидразина - высокотоксичного соединения, используемого в ракетном топливе и взрывчатых веществах». Отмечается, что это связано с бомбардировками Югославии натовской авиацией весной 1999 г. Загрязненность дельты Дуная опасными токсинами вызывает особую тревогу в связи с тем, что Всемирный фонд природы включил ее в число двухсот наиболее важных экосистем планеты. Аналогичная информация размещена на сайте «Проесо».

Несмотря на высокую чувствительность примененного экстракционно-хроматографического метода определения гидразина (предел обнаружения при прямой инъекции пробы воды по оценкам авторов метода составляет  $1 \text{ мкг/л} = 0,03 \text{ нг}$  в объеме пробы 20 мкл), предварительную консервацию проб раствором серной кислоты и быстрый последующий анализ (спустя 4 часа после отбора) не обнаружено присутствия ГН в воде р. Волги в количествах, превышающих ПрО. Небольшие количества гидразина (0.39-0.48 мкг/л), обнаружены в зимних пробах воды из озера Кабан, расположенного в черте г. Казани (Татарстан, РФ). Наличие токсиканта в этой воде авторы связывают с выбросами оборотных вод городской ТЭЦ [41].

Мы попытались определить содержание ГН путем введения в пробы различных природных вод (рек, озер, водохранилищ) нитрита натрия, который, как было показано на первом (методическом) этапе исследований, реагирует с ГН с образованием в качестве единственного продукта реакции закиси азота, с высокой чувствительностью обнаруживаемого газовым хроматографом, снабженным детектором захвата электронов. От возможно-

го влияния гидроксилamina освобождались путем окисления этого промежуточного продукта естественных процессов нитрификации-денитрификации путем предварительного перевода его в газообразный азот с помощью солей железа. Полученные результаты оказались слишком высокими, чтобы приписать их исключительно гидразину. Можно полагать, что нитрит в условиях опыта реагирует не только с ГН, но и с другими соединениями, содержащимися в натуральных пробах воды. Способными к выделению закиси азота при взаимодействии с нитритами могут оказаться неперенные компоненты природных вод – сложные органические вещества гумусовой природы, содержащие периферические цепочки типа  $-NH-NH_2$ .

В водных объектах ГН может находиться в сорбированном состоянии на взвешенных частицах и в донных отложениях. Природа и степень сорбции глинистыми минералами и почвенными частицами сильно зависят от pH и типа поверхностных функциональных групп. В кислой среде первичным механизмом удержания ГН является замещение  $Na^+$  на  $N_2O_5^+$ . В щелочной среде ионный обмен доминирует только в случае монтмориллонита [150].

Больше внимания уделялось производным ГН, в первую очередь, монометилгидразину и несимметричному диметилгидразину. Подробный анализ этих исследований содержится в работе А.А. Белова [6]. Недавно было обнаружено, что ГН является не только продуктом антропогенного характера, но может синтезироваться рядом видов бактерий, обитающих в анаэробных зонах природных вод [137]. Можно надеяться, что работы по поиску их местообитаний, распространенности в природе, механизмам процессов будут с каждым днем интенсифицироваться и мы получим более глубокие знания о месте и роли в биосфере этого, считающегося до сего времени крайне токсичным для всего живого, соединения.

## 8. Заключение.

Проведенные исследования убедительно свидетельствуют, что содержание гидросиламина и гидразина в незагрязненных промышленных стоках природных водах не выходит за пределы нескольких десятков мкг N/л. Биохимические процессы, приводящие к образованию этих соединений, обычно локализованы в микроаэрофильных зонах водоемов. Редкие свидетельства об обнаружении значительных их количеств в хорошо аэрируемых водоемах, по всей вероятности, нуждаются в дополнительных доказательствах.

В аэробных условиях основным процессом, приводящим к образованию ГА в водных экосистемах, считается нитрификация. В условиях анаэробнозиса – бактериальная денитрификация. В выработке природного гидразина принимают участие многие организмы – азотфиксаторы, нитрификаторы. Последние исследования голландских ученых открытого ими нового процесса (Анаммокс)- окисления аммония в анаэробных условиях - могут внести существенные коррективы в эти представления, поскольку было показано, что он непременно проходит через стадию образования гидразина и гидросиламина.

Существуют и остаются нерешенными как чисто химические, так и биохимические, гидробиологические, экологические вопросы относительно многих неорганических соединений азота, в том числе гидросиламина и гидразина, которые считаются сильными ядами для почти всего живого на Земле.

Можно указать на ряд явлений неорганической химии, таких, как гидролиз солей, окислительно-восстановительные реакции, растворение аммиака, гидразина, гидросиламина в воде, обычная трактовка которых не только далека от совершенства, но порой противоречит и опытным данным, и современным теоретическим представлениям о природе молекул [36].

Нитриты, как промежуточный продукт в ряде ключевых биологических процессов, с давних пор исторически использовались в качестве индикатора баланса между окислительными и восстановительными путями при исследованиях цикла азота в

морских водах. Наблюдения показывали, что в стратифицированных водных колонках в эвфотической зоне океанов имеется пик содержания нитритов при близких к нулю концентрациях на более мелких и более глубоких горизонтах. Этот пик называют первичным максимумом нитрита. Объяснения, предлагаемые для объяснения данного феномена, до сих пор оставались противоречивыми. Одни исследователи связывали его с деятельностью бактерий-нитрификаторов, другие с экскрецией  $\text{NO}_2^-$  фитопланктоном. Результаты численного моделирования этих процессов поддерживают обе гипотезы. Большинство специалистов все же склоняются к принятию второго объяснения. Тем не менее вопрос остается достаточно открытым [145].

В решении этого важного вопроса могли бы помочь широкие исследования содержания и поведения других промежуточных продуктов ключевых биологических процессов, таких как гидроксиламин и гидразин. Для этого, в первую очередь, необходимо иметь гораздо более чувствительные по сравнению с существующими на сегодняшний день методы определения очень низких концентраций этих соединений.

По последним генетическим и биохимическим исследованиям аммонийоокисляющие бактерии имеют ферменты, состоящие из трех субъединиц. Гидроксиламин оксидоредуктаза, окисляющая ГА, образованный аммоний монооксидазой, до нитрита детально изучалась методами кристаллографии, спектроскопии и катализа. Много других неорганических азотсодержащих продуктов, такие как  $\text{NO}$ ,  $\text{N}_2\text{O}$ ,  $\text{NO}_2$ , и  $\text{N}_2$ , могут потребляться и/или продуцироваться аммоний-окисляющими бактериями.  $\text{NO}$  и  $\text{N}_2\text{O}$  могут получаться в качестве вторичных продуктов при окислении ГА, образованного на первом этапе при действии аммоний - монооксидазы, ферментом гидроксиламин — оксидоредуктазой.  $\text{NO}_2$  может служить в качестве альтернативного окислителя вместо кислорода в некоторых аммоний-окисляющих штаммах бактерий. Несмотря на то, что знания о многообразии метаболических путей неорганических соединений азота продолжают интенсивно пополняться, остается еще много вопросов относи-



тельно многих энзимов и генов, принимающих участие в этих процессах, а также значения этих путей в окислении аммония [99]

Полученные буквально на днях результаты испанских и шведских ученых убедительно свидетельствуют о необходимости пересмотра существующих представлений об энергетическом и вещественном балансах биосферы. Выяснилось, что способность к производству первичной продукции из неорганических материалов и энергии солнечного света распространена в живой природе гораздо шире, чем считалось. Исследователям удалось экспериментально доказать, что морские микробы, обладающие особыми светочувствительными белками протеородопсинами, действительно являются фототрофными организмами, то есть могут использовать энергию солнечного света не только для дыхания и поддержания жизнедеятельности, но и для активного роста в естественной среде своего обитания [127]. Эта работа опровергает укоренившееся мнение, что способностью к фотосинтезу обладают только зеленые растения, осуществляющие фотосинтез при помощи хлорофилла *a*, и фототрофные бактерии, делающих то же самое при помощи бактериохлорофиллов. Немногим ранее было показано, что многие бактерии обладают протеородопсинами и, более того, что такие организмы являются непременной составной частью морского бактериопланктона.

Совокупность этих работ является важной вехой на пути более глубокого понимания происходящих в биосфере процессов круговорота энергии и вещества. Пока еще остаются открытыми вопросы масштабов влияния нового вида фототрофии на глобальные процессы фотосинтеза, деструкции, аммонификации, нитрификации, денитрификации, фиксации азота. Можно не сомневаться, что это влияние будет весьма заметным, поскольку процессы трансформации углерода и азота в природе являются сопряженными [52, 53, 74]. Можно полагать, что мы стоим на пути глубоких изменений и наших общебиологических представлений.

### Список литературы

1. Алекин О.А. Основы гидрохимии. Л.: Гидрометеиздат. 1970. 443 с.
2. Бабаян Ж.К. Микробиологические процессы в озере Севан. Автореф. дисс. к.б.н. М.: МГУ. 1984. 25 с.
3. Бабаян Ж.К., Казарян Т.М., Саралов А.И. Сезонная динамика содержания соединений азота в озере Севан в 1982 г. Тр. Севанской гидробиол. станции. 1984. Т. 20. С. 78-89.
4. Барашков Г.К. Сравнительная биохимия водорослей. М.: 1972. 336 с.
5. Батенков В.А. Охрана биосферы. 2002. Барнаул. Изд-во Алтайского ун-та. 193 с.
6. Белов А.А. К вопросу о токсичности и опасности гидразина и его производных (обзор) Промышленная токсикология. № 1. 2000.
7. Берка А., Вултерин Я., Зыка Я. Новые ред-окс методы в аналитической химии. М.: Химия. 1968. 317 с.
8. Беспамятнов Г.П., Богушевская К.К., Беспамятнова А.В., Кротов Ю.А., Зеленская Л.А., Плехоткин В.Ф., Смирнов Г.Г. Предельно допустимые концентрации вредных веществ в воздухе и воде. Л.: Химия. 1975. 456 с.
9. Бикбулатов Э.С. Химический состав органического вещества фитопланктона. В кн. Микробиологические и химические процессы деградации органического вещества в водоемах. 1979. Л.: Наука. С. 151- 158.
10. Бикбулатов Э.С. Функциональные связи между элементарным составом и показателями свойств органического вещества природных вод. // Водные ресурсы, 1981. №1. С.164-182.
11. Бикбулатов Э.С., Литвинов А.С., Степанова И.Э., Бикбулатова Е.М., Кочеткова М.Ю. Гидролого-гидрохимические условия в Горьковском и Чебоксарском водохранилищах в летнюю межень 2001 г. // Экологическая химия. 2006. Т. 15. Вып. 2. С. 82 - 94.
12. Бикбулатов Э.С. Газохроматографический метод определения нитритов. // Инф. Бюл. ИБВВ АН СССР. 1990. №89. С. 87-90.
13. Бикбулатов Э.С., Бикбулатова Е.М., Литвинов А.С., Поддубный С.А. Гидрология и гидрохимия оз. Неро. Рыбинск. ОАО Рыбинский дом печати. 2003. 192 с.

14. Бикбулатов Э.С., Верещагин В.М., Простой реактив для определения нитритов в природных водах. // Океанология. 1979. №2. С. 341-343.
15. Бикбулатов Э.С., Щеглов Д.Е. Гидрохимический режим оз. Плещеево в 1988-1992 гг. // Тр. Всерос. науч. конф., посвященной 300-летию юбилею отечественного флота. Переславль-Залесский. 1993. Т.3. С. 34-42.
16. Бикбулатов Э.С., Бикбулатова Е.М. Кинетические закономерности разложения органических веществ в притоках Рыбинского водохранилища. 1993. В кн. Формирование и динамика полей гидрологических характеристик и их формирование. Гидрометеиздат. С. 111-150.
17. Бикбулатов Э.С., Степанова И.Э. Оценка трофности Рыбинского водохранилища с помощью потенциала регенерации биогенных элементов. Водные ресурсы. 2002. Т.29. Вып. 6. С. 721-727.
18. Бикбулатова Е.М. Оценка масштабов седиментации ОВ фитопланктона в Рыбинском водохранилище. В кн. Органическое вещество донных отложений волжских водохранилищ. 1993. С-Пб. Вып. 66/69. С. 16-24.
19. Бикбулатова Е.М., Скопинцев Б.А., Бикбулатов Э.С. Изменение химического состава воды и взвесей при распаде органического вещества фитопланктона в анаэробных условиях. В кн. Микробиологические и химические процессы деструкции органического вещества в водоемах. 1979. Л.: Наука. С. 187-203.
20. Бикбулатова Е.М., Степанова И.Э., Бикбулатов Э.С. Содержание и локализация гидроксиламина в водохранилищах и озерах европейской территории России. // Водные ресурсы. 2007. Т.34. №4. С. 1-9.
21. Брикун И.К., Козловский М.Т., Никитин Л.В. Гидразин и гидроксилламин и их применение в аналитической химии. Алма-Ата. Наука, 1967. 175 с.
22. Вахромеев И.В., Гусев Е.С. Краткая гидробиологическая и гидрохимическая характеристика озер Владимирской области - мест произрастания охраняемых реликтовых видов водных сосудистых растений. // Экологические проблемы уникальных природных и антропогенных ландшафтов. Матер. Всерос. научно-практич. конф. Ярославль, 2004. С. 79-84.

23. Виноградский С.Н. Микробиология почвы. Проблемы и методы. М.: Изд-во АН СССР. 1952. 660 с.
24. Волга и ее жизнь. 1978. Л.: Наука. 350 с.
25. Волюнец В.Ф., Волюнец М.П. Аналитическая химия азота. 1977. М.: Наука. 306 с.
26. Вольпин М.Е., Шур В.Б. Фиксация молекулярного азота в апротонных средах. // Новое в химической фиксации азота. 1983. М.: Мир. С. 77.
27. Гапеева М.В., Разгулин С.М., Скопинцев Б.А. Ампульный метод определения общего азота в природных водах. // Гидрохим. матер. 1982. Т. 87. С. 24-28.
28. Гидробиологический режим озер и водохранилищ СССР. Каскад днепровских водохранилищ. 1976. Л.: 348 с.
29. Гиляров А. Чтобы свести баланс азота, надо правильно посчитать фитопланктон. <http://elementy.ru/news/430261>
30. Гоголашвили Э.Л., Евгеньева И.И., Евгеньев М.И.. Гидразин в сточных водах тепловых электростанций: проблемы анализа. // Экология и промышленность России. 2006. №9. С. 40-41.
31. Горленко В.М., Дубинина Г.А., Кузнецов С.И. Экология водных микроорганизмов. 1977. М.: Наука. 288 с.
32. Горюнова С. В., Ржанова Г.Н., Орлеанский В.К. Синезеленые водоросли. 1969. М.: 229 с.
33. Греков А.П. Органическая химия гидразина. Киев. Техника. 1966. 235 с.
34. Греков А.П., Веселов В.Я. Физическая химия гидразина. Киев. Наукова Думка. 1979. 258 с.
35. Гусев М. В. , Минеева Л. А.. Микробиология. 2006. Изд-во Академия. 464 с.
36. Дей К., Селбин Д. Теоретическая неорганическая химия. Изд. 2-е, исправленное. Изд. «Химия», 1971 г. 416 с.
37. Денисова А.И., Нахшина Е.П., Новиков Б.И., Рябов А.К. Донные отложения водохранилищ и их влияние на качество воды. 1987. Киев. Наукова думка. 164 с.
38. Довбня И.В. Высшая водная растительность оз. Неро. // Современное состояние экосистемы оз. Неро. Рыбинск. 1991. С. 62-73.
39. Довбня И.В. Продукция гидрофильной растительности озера Неро. // Инф. Бюл. ИБВВ РАН. 1995. №98. С. 13-16.

40. Дроздов Н.С., Искандарян А.К.: Определение очень малых количеств нитрата, нитрита и гидроксиламина. // Ж. аналит. хим. 1956. Т. XI. Вып. 6. С. 723-727.
41. Евгеньев М.И., Евгеньева И.И., Исмаилова Р.Н.. Экстракционно-хроматографическое определение гидразина в виде 5,7 динитробензофуранового производного в природных водах с диодно-матричным детектированием. // Ж. аналит. хим. 2000. Т. 55. № 10. С. 1038-1043.
42. Зеленин К. Н. Гидразин. // Соросовский образовательный журнал. Химия. 1998. №5. С. 59.
43. Зенин А.А. Гидрохимия Волги и ее водохранилищ. Л.: Гидрометеиздат, 1965. 260 с.
44. Игнатов В.В. Биологическая фиксация азота и азотфиксаторы. Соросовский образовательный журнал. 1998. №9. С. 28-33.
45. Иоффе Б.В., Кузнецов М.А., Потехин А.А. Химия органических производных гидразина. Л.: Химия, 1979. 224 с.
46. Исмаилова Р.Н. Сорбционно- и экстракционнохроматографическое определение ароматических аминов и гидразинов в воздухе и природных водах. Дис. к.х.н. 2003. Казань. 137 с.
47. Крылова И.Н. Нитрификация и денитрификация в озерах различного типа. Автореф. дис. к.б.н. 1984. М.: МГУ. 24 с.
48. Казаков Е.Н., Пронина М.В. Химический состав различных форм планктона и бентоса. Тр. Лаб. генезиса сапропеля. 1941. Т. 2. С. 49-52.
49. Колла В.Э., Бердинский И.С. Фармакология и химия производных гидразина. Йошкар-Ола: Мар. кн. изд-во, 1976. 264 с.
50. Корнева Л.Г., Гусаков В.А., Гусев Е.С., Жгарева Н.Н., Крылов А.В., Павлов Д.Ф., Романенко А.В. Экологическая характеристика слабоминерализованных карстовых озер Центральной России (Владимирская область). // Известия Самарского науч. центра РАН. 2004. Вып. 3. С. 171-181.
51. Костяев В.Я. Биология и экология азотфиксирующих синезеленых водорослей пресных вод. 1986. Л.: Наука. 146 с.
52. Кузнецов С.И. Микрофлора озер и её геохимическая деятельность. Л.: Наука, 1970. 439 с.
53. Кузнецов С.И., Саралов А.И., Назина Т.Н. Микробиологические процессы круговорота углерода и азота в озерах. М.: Наука, 1985. 214с.

54. Леонов А.В. Кинетика биотрансформации соединений органических элементов в природных водах (математическое моделирование и анализ закономерностей круговорота). 1991. Автореф. Дис. Д-ра хим. Наук. Ростов-на-Дону. 65 с.
55. Леонов А.В. Математическое моделирование процессов биотрансформации веществ в природных водах. 1999. // Водные ресурсы. Т. 26. №5. С. 624-630.
56. Лис Г. Биохимия автотрофных бактерий. М.: ИЛ, 1958. 324с.
57. Литвинов А.С., Законнова А.В. Водный баланс, водообмен и режим уровня Чебоксарского водохранилища в первые годы заполнения. // Водные ресурсы. 1986. №3. С. 69-75.
58. Малашенко Ю. Р., Романовская В.А., Троценко Ю.А. Метанокисляющие бактерии. 1978. М.: Наука. 197 с.
59. Мартынова М.В. Азот и фосфор в донных отложениях озер и водохранилищ. М.: Наука, 1984.160 с.
60. Матвеев Л.Т. Курс общей метеорологии. 1984. Л.: Гидрометеоиздат.
61. Некрасов Б.В. Основы общей химии. 1973. М.: Химия. Т.1. 656
62. Николаева Р.Б., Сайкова С.В., Казаченко А.С. Неорганическая химия. Часть 4. Практикум по химии элементов и их соединений. 2006. Красноярск: КГУ. 118 с.
63. Одрит Л., Огг Б., Химия гидразина. 1954. М.: Наука. 236 с.
64. Пахомова М.В. Биохимическое исследование некоторых видов водорослей. // Бюл. Моск. о-ва испыт. Природы. Отд. биол. 1964. Т. 69. Вып. 3. С. 110-126.
65. Перечень ПДК и ориентировочно безопасных уровней воздействия вредных веществ для воды рыбохозяйственных водоемов. М.: Мединор, 1995. 220 с.
66. Перечень рыбохозяйственных нормативов: предельно допустимые концентрации (ПДК) и ориентировочно безопасные уровни воздействия (ОБУВ) вредных веществ для воды водных объектов, имеющих рыбохозяйственное значение. М.: Изд-во ВНИРО. 1999.
67. ПНД Ф 14.1:2.4.191-03. Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовой концентрации гидразина в пробах питьевых, природных и сточных вод газохроматографическим методом. М. 2003.
68. Проданчук Г.Н., Балан Г.М. Окислительный стресс в формировании гемолитической анемии при токсическом воздействии соединений гидроксиламина. // Сучасні проблеми токсикології. 2005. №1.

69. Пшенин Л.Н. Биология морских азотфиксаторов. 1966. Киев. Наукова думка. 264 с.
70. Рахимов А.Р., Якубов Х.Ф. О некоторых биохимических свойствах штаммов хлореллы и сценедесмуса, выращенных в различных условиях питания. В кн.: Культивирование водорослей и высших водных растений в Узбекистане. Ташкент. 1971. С. 47-51.
71. Романенко В.И. Микробиологические процессы продукции и деградации органического вещества во внутренних водоемах. 1985. Л.: Наука. 295 с.
72. Роуз Э. Химическая микробиология, М., Мир. 1971. 295 с.
73. Рыбинское водохранилище и его жизнь. Л.: Наука, 1972. 364 с.
74. Саралов А.И. Микробиологические процессы цикла азота в озёрах. Дис. д.б.и. 1989.
75. Скопинцев Б.А. О кислородном эквиваленте органических веществ природных вод. // ДАН СССР. 1947. Т. 58. № 9. С. 2089-2092.
76. Скопинцев Б.А. Органическое вещество в природных водах (водный гумус). Л.: Гидрометеоздат, 1950. 290 с.
77. Скопинцев Б.А., Бикбулатов Э.С., Бикбулатова Е.М., Мельникова Н.И. Изменение химического состава воды и взвесей при распаде органического вещества фитопланктона в аэробных условиях. В кн. Микробиологические и химические процессы деградации органического вещества в водоемах. 1979. Л.: Наука. С. 159- 186.
78. Соловьева Г.В. Определение вредных веществ в воздухе. 1957. М.: Медицина. С. 89-97.
79. Сорокин Д.Ю., Дубинина Г.А. Окисление гидросиламина гетеротрофными бактериями. // Микробиология. 1986. Т. 55. Вып.2. С. 289-294.
80. Степанова И.Э., Бикбулатова Е.М., Бикбулатов Э.С. Трансформация гидросиламина в водных средах. // Экологическая химия. 2005. Т. 14. Вып. 2. С. 118-125.
81. Страйер Л. Биохимия. М.: Мир, 1985. Т.1. 387с.
82. Темкин О.Н. Химия молекулярного азота. // Соросовский образовательный журнал. 1997. №10. С. 98-104.
83. Тредвелл Ф.П., Голл В.Т. Качественный анализ. 1946. М.: Госхимиздат. 330 с.
84. Трифонова Н.А. Об определении аммонийного азота в природных водах. // Информ. бюл. ИБВВ АН СССР. 1977. № 43. С. 70-75.
85. Трифонова Н.А. К оценке скорости нитрификации в воде Верхней Волги. // Инф. Бюл. ИБВВ АН СССР. 1986. № 71. С. 52-56.

86. Трофимова М.Г. Оценка состояния системы «Водосбор – водоем оз. Великое». ОТЧЕТ. 1993. Москва. 198с.
87. Трубачев Н.И., Гительзон И.И., Калачева Г.С., Барашков В.А., Белянин В.Н., Андреева Р.И. Биохимический состав некоторых синезеленых водорослей и хлореллы. // Прикладная биохимия и микробиол. 1976. Т. 12. № 2. С. 196-202.
88. Филос В. А. Сегидрин – противоопухолевый препарат нового типа. // Вопросы онкологии. 1994. Т. 40. № 1-3. С. 3-14.
89. Фортунатов М.А., Московский Б.Д. Озера Ярославской области и перспективы их хозяйственного использования. Ярославль. 1970. 388 с.
90. Халиуллин Р. З. Сильнодействующие ядовитые вещества. Гидразин и его производные. 1998. Реферат. Москва. Российский Химико-Технологический Университет. 11 с.
91. Харитонов Ю. Я., Саруханов М. А. Химия комплексов металлов с гидроксиламином. 1977. М.: Наука.
92. Хендерсон-Селлерс Б., Марклэнд Х.Р. Умирающие озера. Причины и контроль антропогенного эвтрофирования. Л.: Гидрометеоиздат. 1990. 280 с.
93. Химический энциклопедический словарь. М: Наука, 1988. Т. 1. С. 547—550.
94. Шилов А.Е. Фиксация азота в растворах в присутствии комплексов переходных металлов // Успехи химии. 1974. № 5. С. 863.
95. Шилов А.Е. Сопоставление биологической фиксации азота с химической фиксацией в модельных системах // Новое в химической фиксации азота. М.: Мир, 1983. С. 132.
96. Экосистема оз. Плещеево. 1989. Л.: Наука, 264 с.
97. Эмануэль Н.М., Кнорре Д.Г. Курс химической кинетики. 1974. М.: Высшая школа, 400 с.
98. Abel D. S., Matsumura-Tundisi T., Rocha O., Tundisi J.G. Denitrification and bacterial community structure in the cascade of six reservoirs on a tropical river in Brazil. // Hydrobiol. 2003. V. 504. N.1-3. P. 67-76.
99. Arpa D. J., Stein L. Y. Metabolism of Inorganic N Compounds by Ammonia-Oxidizing Bacteria. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology. 2003. V. 38. N 6. P. 471 – 495.
100. Baxter R.M., Wood R.B., Prosser M.V. The probable occurrence of hydroxylamine in water of an Ethiopian lake. // Limnol. and Ocean. 1973. V. 18. N3. P. 470-471.



101. Belser L. W. Population ecology of nitrifying bacteria. // *Ann. Rev. Microbiol.* 1979. V. 33. P. 309-333.
102. Berger P.S., Rao J., Gunner H.B. Bacterial suppression of *Chlorella* by hydroxylamine production. // *Water Res.* 1979. V. 13. P. 267-273.
103. Bhattacharya R., Jeevarafnam K. Protection against cyanide poisoning by the co-administration of sodium nitrite and hydroxylamine in rats. // *Hum. and Exp. Toxicol.* 1993. V.12. №1. P. 33-36.
104. Birch P.B., Spyridakis D. E. Nitrogen and phosphorus recycling in lake Sammamish, a temperate mesotrophic lake. // *Hydrobiologia.* 1981. V. 80. N2. P. 129-138.
105. Birge E., Juday C. The plankton. I. Its quantity and chemical composition. Wisconsin geological and natural history Survey. Bull. 1922. N 64. 222 p.
106. Birge E., Juday C. Particulate and dissolved organic matter in inland lakes. // *Ecological Monographs.* 1934. V. 4. N4. P. 440-474.
107. Boulet P., Gildardi F., Weber J., Chermette H., Ellinger Y. Theoretical study of interstellar hydroxylamine chemistry: protonation and proton transfer mediated by  $H_3^+$ . // *Chem. Phys.* 1999. V. 244. P. 163-174.
108. Brandt K., Raben E. Zur Kenntnis der chemischen Zusammensetzung des plankton und einiger Bodenorganismen. // *Wiss. Meeresuntersuch.* 1922. N 19. S. 175-210.
109. Brettar I., Moore E.R.B., Hoffe M.G. Phylogeny and abundance of novel denitrifying bacteria isolated from the water column of the central Baltic Sea. // *Microbial Ecology.* Online publication: 17 August 2001. DOI: 10.1007/s00248-001-0011-2.
110. Breyman M.T., Angelis M.A., Jordon L.J. Gas chromatography with electron capture detection for determination of hydroxylamine in sea water. // *Anal. chem.* 1982. V. 54. №7. P. 1209 -1210.
111. Burlew J.S. Algal culture from laboratory to pilot plant. Carnegie institution of Washington publication. 1961. N 600. 357 p.
112. Butler J.H., Gordon L.I. An improved gas chromatographic method for the measurement of hydroxylamine in marine and fresh waters. // *Marine chemistry.* 1986. V. 19. P. 229-243.
113. Butler J.H., Gordon L.I. Hydroxylamine and nitrous oxide over the Cariaco Trench, west basin 14-17 march 1986. Final report for R/V Columbus Iselin Cruise CI 8601. Leg 2. 1986. 26p.

114. Butler J.H., Elkins J.W. An automated technique for the measurement of dissolved  $N_2O$  in natural waters. // *Marine chemistry*. 1991. V. 34. P. 47-61.
115. Butler J.H., Jones R.D., Garber J.H., Gordon L.I. Distribution and fluxes of reduced trace gases and hydroxylamine in Yaquina Bay, Oregon. // *Geochimica et Cosmochimica Acta*. 1987. V. 51. P. 697-706.
116. Butler J.H., Pequegnat J.E., Gordon L.I., Jones R.D. Cycling of methane, carbon monoxide, nitrous oxide and hydroxylamine in a meromictic, coastal lagoon. // *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. 1988. V. 27. P. 181-203.
117. Castignetty D., Hollocher T.C. Heterotrophic nitrification among denitrifiers. // *Appl. Environ. Microbiol.* 1984. V. 47. N 4. P. 620-623.
118. Cohen Y. Shipboard measurement of dissolved nitrous oxide in seawater by electron capture gas chromatography. *Anal. Chem.* 1977. V. 49. N 8. P. 1238-1240.
119. Davis C. S., McGillicuddy D.J. Jr. Transatlantic abundance of the  $N_2$ -fixing colonial cyanobacterium *Trichodesmium* // *Science*. 2006. V. 312. P. 1517-1520.
120. Falkowski P. G. Evolution of the nitrogen cycle and its influence on the biological sequestration of  $CO_2$  in the ocean. // *Nature*. 1997. V. 387. P. 272 – 275.
121. Fiadeiro M., Solorzano L., Strickland J.D.H. Hydroxylamine in seawater. // *Limnol. And Ocean*. 1967. V. 12, N3, 555-556.
122. Fogg G.E. Extracellular products of algae in freshwater. // *Arch. Hydrobiol. Bech.* 1971. V.5. P. 1-25.
123. Fogg G.E., Collyer D.M. The accumulation of lipides by algae. In: *Algal culture from laboratory to pilot plant*. Washington. 1961. N 600. P.177-181.
124. Fukumori R., Senga Y., Okumura M., Fujinaga K., Seike Y. Pre-treatment and preconcentration methods for hydroxylamine in environmental water samples using solid-phase extraction, followed by a spectrophotometric determination. // *Bunseki Kagaku*. 2003. V. 52. N9. P. 747-753.
125. Gelda R.K., Brooks C.M., Effler S.W., Auer M.T. // Inter-annual variations in nitrification in a hypereutrophic urban lake: occurrences and implications. // *Water Res.* 2000. V. 34, N 4, P. 1107-1118.

126. Gebhardt S., Walter S., Nausch G., Bange H. W. Hydroxylamine (NH<sub>2</sub>OH) in the Baltic Sea. // *Biogeosciences Discussions*. 2004. V. 1. P. 709–724.
127. Gómez-Consarnau L., González J.M., Coll-Lladó M., Gourdon P., Pascher T., Neutze R., Pedrós-Alió C., Pinhassi J. Light stimulates growth of proteorhodopsin-containing marine Flavobacteria. // *Nature*. 2007. V. 445. P. 210–213.
128. Gribsholt B., Boschker H. T. S., Struyf E., Andersson M., Tramper A., De Brabandere L., van Damme S., Brion N., Meire P. Nitrogen processing in a tidal freshwater marsh: A whole-ecosystem N labeling study. // *Limnol. Oceanogr.*, 2005. V. 50. N6. P. 1945–1959.
129. Hall G.H. Apparent and measured rates of nitrification in the hypolimnion of mesotrophic lake. // *Appl. Environ. Microbiol.* 1982. V. 43. N3. P. 542–547.
130. Hanusova J., Havlik B. The production of hydroxylamine by aquatic organisms. // *Acta hydrochim. et hydrobiol.* 1979. V. 7. N1. P. 35–41.
131. Hasegawa T., Okino T. Seasonal variation of denitrification rate in Lake Suwa sediment. // *Limnology*. 2004. V. 5. N1.P. 33–39.
132. Heath R.L. Hydrazine as an electron donor to the water-oxidation site in photosynthesis. *Biochim. Biophys. Acta*. 1971. V. 245. P. 160–164
133. International Agency for Research on Cancer (IARC). 1999. V. 71. P. 991.
134. Islas-Lima S., Thalasso F., Gomez-Hernandez J. Evidence of anoxic methane oxidation coupled to denitrification. // *Water Research*. 2004. V. 38. P. 13–16.
135. Jetten M.S.M. New pathways for ammonia conversion in soil and aquatic systems. // *Plant and Soil*. 2001. V. 230: P. 9–19.
136. Jetten M. S. M., Sliemers O., Kuypers M., Dalsgaard T., van Niftrik L., Cirpus I., van de Pas-Schoonen K., Lavik G., Thamdrup B., Le Paslier D., Op den Camp H. J. M., Hulth S., Nielsen L. P., Abma W., Third K., Engström P., Kuenen J. G., Jørgensen B. B., Canfield D. E., Damsté J. S., Revsbech N. P., Fuerst J., Weissenbach J., Wagner M., Schmidt I., Schmid M., Strous M. Anaerobic ammonium oxidation by marine and freshwater planctomycete-like bacteria. // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2003. V. 63. N 2. P. 107–114.

137. Kane D.A., Williamson K.J. Bacterial toxicity and metabolism of hydrazine fuels. // Arch. Environ. Contam. Toxicol. 1983. V. 12. P. 447-453.
138. Klipp W., Masepohl B., Gallon J., Newton W. (eds.) Genetics and Regulation of Nitrogen Fixation in Free-Living Bacteria. V. 2. 2005. Springer Netherlands. DOI10.1007/1-4020-2179-8. Text PDF (3,097 kb).
139. Kolber Z.S. Getting a better picture of the ocean's nitrogen budget. // Science. 2006. V.312. P.1479-1480.
140. Koprivik B., Burian V. Vznik a vyskyt hydroxylamine v rybních vodach. // Čsl. hygiena. 1966. V. 11. P. 268. (quoted according to Hanusova J., Havlik B. 1979).
141. Koyama T., Tomino T. Decomposition process carbon and nitrogen in lake water. // Geochemical Journal. 1967. V. 1. P. 109-124.
142. Lees H. Hydroxylamine as an intermediate in nitrification. // Nature. 1952. V.169. N 4291. P. 156-157.
143. Lemon E., Lemon D. Nitrous oxide in freshwaters of the Great Lakes Basin. Limnol. and Ocean. 1981. V. 26. N. 5. P. 867-879.
144. Lewin R.A. Physiology and biochemistry of algae. N. Y. 1962. 938 p.
145. Lomas M.W., Lipschultz F. Forming the primary nitrite maximum: Nitrifiers or phytoplankton? // Limnol. Oceanogr., 2006. V. 51. N5. P. 2453-2467.
146. MacNaughton M. G., Urda G.A., Bowden S.E. Oxidation of Hydrazine in Aqueous Solutions. 1978. Report number: A932850. 37 p.
147. Milner H.W. The chemical composition of algae. In: Algal culture from laboratory to pilot plant. Washington. 1961. N 600. P. 285-302.
148. Ming Yang and Hu Lin Li. Differential Pulse Voltammetric Determination of Traces of Hydrazine Using Magnetic Microspheres. // Mikrochim. Acta. 2002. V. 138. P. 65-68.
149. Moliner A.M., Street J.J. Decomposition of hydrazine in aqueous solutions. // J. Environ. Qual. 1989. V. 18. P. 483-487.
150. Moliner A.M., Street J.J. Interaction of hydrazine with clays and soils. // J. Environ. Qual. 1989. V. 18. P. 487-491.
151. Mulder A., van de Graaf A.A., Robertson L.A., Kuenen J.G. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. // FEMS Microbiol. Ecol. 1995. V.16. P. 177-184.
152. Murphy T.P., Brownlee B.G. Blue-green algae ammonia uptake in hypertrophic prairie lakes. // Canad. J. Fish. Aquatic Science. 1981. V. 38. N 9. P. 1040-1044.

153. Nowak R., Wilson W.P. The utilization of nitrogen in hydroxylamine and oxymes by *Azotobacter vinelandii*. // J. Bacter. 1948. V. 55. P. 517-525.
154. Nwankwoala A.U., Egiebor N.O., Nyavor K. Enhanced biodegradation of methylhydrazine and hydrazine contaminated NASA wastewater in fixed-film bioreactor. // Biodegradation. 2001. V. 12. N. 1. P. 1-10.
155. Ou L.T. Microbial degradation of hydrazine. // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1987. V. 39. P. 78-85.
156. Ou L.T., Street J.J. Hydrazine degradation and its effect on microbial activity in soil. // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1987. V. 38. P. 179-183.
157. Palacios R., Newton W. (eds). Genomes and Genomics of Nitrogen-fixing Organisms. V. 3. 2005. Springer Netherlands. DOI10.1007/1-4020-3054-1.Text PDF (7,727 kb).
158. Parsons T.R., Stephens K., Strickland J.D.H. On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. // J. Fish. Res. Board Canada. 1961. V. 18. N 6. P. 1001-1016.
159. Pittwell L. R. The determination of hydroxylamine in Ethiopian rivers and lakes. // J. Microchimica Acta. 1975. V. 64. N. 4-5. P. 425-429.
160. Pratt P. F. Effect of increased nitrogen fixation on stratospheric ozone. // J. Climatic Change. 1977. V. 1. N. 2. P. 109-135.
161. Pribyl A. L., Mccutchan J. H., Lewis W. M., Saunders J. F. Whole-system estimation of denitrification in a plains river: a comparison of two methods. // J. Biogeochem. 2005. V. 73. N. 3. P. 439-455.
162. Raghoebarsing A.A., Pol A., van de Pas-Schoonen K. T., Smolders A. J. P., Ettwig K. F., Rijpstra W. I. C., Schouten S., Damsté J. S. S., Op den Camp H. J. M., Jetten M. S. M., Strous M. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification // Nature. 2006. V. 440. P. 918-921.
163. Rakestrow N.W., Hallender A. Photochemical oxidation of ammonia in sea water. // Science. 1936. V. 84. P. 442 – 443.
164. Richards F.A. Chemical observations in some anoxic, sulfide bearing basins and fjords. Second International conference on water pollution. 1964. Tokyo.
165. Richards P.A. Anoxic basins and fjords. In: Chemical oceanography. L.: 1964. V. 1. P. 611-646.

166. Schalk J., Oustad H., Kuenen J.G., Jetten M.S.M. The anaerobic oxidation of hydrazine: a novel reaction in microbial nitrogen metabolism. // FEMS Microbiology letters. 1998. V. 158. P. 61-67.
167. Seike Y., Senga Y., Oka E., Fujinaga K., Okumura M. Simple and sensitive method for the determination of hydroxylamine in fresh-water samples using hypochlorite followed by gas chromatography. // Analytical Sciences. The Japan Society Analyt. Chem. 2004. V. 20. P. 139-142.
168. Selim S., Warner C.R. Residue determination of hydrazine in water by derivatization and gas chromatography. // J. Chromatography. 1978. V. 166. P. 507-511.
169. Senga Y., Mochida K., Okamoto N., Fukumori R., Seike Y. Nitrous oxide in brackish Lake Nakaumi, Japan II: the role of nitrification and denitrification in  $N_2O$  accumulation. // Limnology. V. 3. N.1. P. 21 – 27.
170. Slonim A.R., Gisclard J.B. Hydrazine degradation in aquatic systems. // Bull. Environ. Contam. Toxicol. 1976. V. 16. P. 301-309.
171. Somville M. A method for the measurement of nitrification rates in water. // Water Res. 1978. V. 12. N10. P. 843-848.
172. Søren R., Glud R. N. Anaerobic  $N_2$  production in Arctic sea ice. // Limnol. Oceanogr. 2004. V. 49. N1. P. 86–94.
173. Spoelstra J., Schiff S.L., Elgood R.J., Semkin R.G., Jeffries D.S. Tracing the Sources of Exported Nitrate in the Turkey Lakes Watershed Using  $^{15}N/^{14}N$  and  $^{18}O/^{16}O$  isotopic ratios. // Ecosystems. 2001. N 4. P. 536-544.
174. Spoehr H.A., Milner H.W. The chemical composition of Chlor-*ella*: effect of environmental conditions. // Plant Physiology. 1949. V. 24. P. 120-149.
175. Strickland J.D.H. Production of organic matter in the primary stages of the marine food chain. In: Chemical Oceanography. L. 1964. V. 1. P. 478-595.
176. Strickland J.D.H., Parsons T.R. A practical handbook of seawater analysis. 1968. 310p.
177. Sulbha Amlathe, Gupta V.K. Spectrophotometric determination of trace amounts of hydrazine in polluted water. // Analyst. 1988. V. 113. P. 1481-1483.
178. Sverdrup H.I., Johnson M.W., Fleming R.H. The oceans. N.Y. Prentice-hall. 1962. 1060 p.

179. Szekiolda K.-H. Ein chemisches Modell für den Auf- und Abbau organischen Materials und dessen Anwendung in der offenen See. // J. Conseil. perman. internat. explorat. Mer. 1968. V. 32. N 2. P. 180-187.
180. Takahashi M., Yoshioka T., Saijo Y. Nitrogen metabolism in lake Kizaki, Japan. 3. Active nitrification in early summer. // Arch. Hydrobiol. 1982. B. 93. N3. S. 272-286.
181. Tanaka M. Occurrence of hydroxylamine in lake waters as an intermediate in bacterial reduction of nitrate. // Nature. 1953. V. 171. N 4365. P.1160-1162.
182. Thamdrup, Bo, Dalsgaard T., Jensen M. M., Ulloa O., Farnas L., Escobano R. // Limnol. Oceanogr. 2006. V. 51. N5. P. 2145-2156.
183. Van de Graaf A. A., Mulder A. A., De Bruijn P., Jetten M. S. M., Robertson L. A. and Kuenen J. G. Anaerobic ammonium oxidation is a biologically mediated process. // Appl. Environ. Microbiol. 1995. V. 61. P. 1246-1251.
184. Verstraete W., Alexander M. Heterotrophic nitrification in samples of natural ecosystems. // Naturwissenschaften. 1972. N2. S. 79-80.
185. Verstraete W., Alexander M. Heterotrophic nitrification by *Arthrobacter* sp. // J. Bacter. 1972. V. 110. N3. P. 955-961.
186. Verstraete W., Alexander M. Mechanism nitrification by *Arthrobacter* sp. // J. Bacter. 1972. V. 110. N3. P. 962-967.
187. Verstraete W., Alexander M. Heterotrophic nitrification in samples of natural ecosystems. // Environmental Science and Technology. 1973. V. 7. N1. P. 39-42.
188. Vincent W.F., Downes M.T. Nitrate accumulation in aerobic hypolimnia: relative importance of benthic and planktonic nitrifiers in an oligotrophic lake. Appl. Environ. Microbiol. 1981. V. 42. N4. P. 565-573
189. Virji S., Kaner R.B., Weiller B.H. Hydrazine Detection by Polyaniline Using Fluorinated Alcohol Additives. // Chem. Mater. 2005. V. 17. N 5. P. 1256 -1260.
190. Vogel M., Buldt A., Karst U. Hydrazine reagents as derivatizing agents in environmental analysis – a critical review. // Fresenius J. Anal. Chem. 2000. V. 366. P. 781-791.
191. Vokounova E. Kolorometrické stanovení hydroxylaminu v povrchových vodách. // Čsl. Hygiena. 1959. V.4. P. 440-444.
192. Wang S., Du L., Zhang A., Liu D. Kinetic Spectrophotometric Determination of Hydrazine with Neutral Red-Nitrite System. // Microchimica Acta. 2000. V. 134. N 3-4. P. 167-170.

193. Werner D., Newton W. (eds). Nitrogen Fixation in Agriculture, Forestry, Ecology, and the Environment V. 4. 2005. Springer Netherlands. DOI10.1007/1-4020-3544-6. Text PDF (3,620 kb)
194. Wetzel R. G. Limnology. 1983. New York. 860 p.
195. WHO EHC: Hydrazine. 1991. Geneva. N 68. 83 p.
196. Wood E.D., Armstrong F.A., Richards F.A. Determination of nitrate in sea water by cadmium-copper reduction to nitrite. // J. mar. biol. Ass. 1967. V. 47. P. 23-31.
197. Wright R.T., Hobbie J. E. The uptake of organic solutes in lake water. // Limnol. And Ocean. 1965. V. 10. N1. P. 22-28
198. Zhang H., Bartlett R.J. Light-induced disappearance of nitrite in the presence of iron (III). // Chemosphere. 2000. V. 40. N4. P. 411-418.



## Приложение 1. Гидроксиламин.

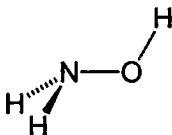
Впервые получен в виде соли в 1865 г. К открытию этого вещества Лоссена привело изучение реакции восстановления азотной кислоты водородом в момент выделения. Он установил, что в определенных условиях можно получить продукт неполного восстановления  $\text{HNO}_3$ , вещество, занимающее промежуточное положение между кислородными и водородными соединениями азота. По определению Лоссена гидроксиламин (ГА) - аммиак, в котором атом водорода замещен на  $\text{OH}$ , т.е. состав которого отражается формулой  $\text{NH}_2\text{OH}$ .

ГА и его соединения, особенно соли - сульфат и гидрохлорид, широко используются в аналитической химии как сильные окислители или восстановители, в органической химии - для получения оксимов и многих других важных классов соединений. Используются в медицине для лечения различных кожных заболеваний, а также во многих органических синтезах, представляющих особый интерес для фармацевтической промышленности. Они находят широкое применение в промышленности - в производстве капролактама, каучуково-резиновых изделий, различных химических реагентов, ряда пестицидов, в частности пиретроидов, красителей и проявителей для цветной фотографии. Чистый ГА может быть использован в качестве компонента ракетного топлива. Столь широкий спектр приложений обусловил повышенное внимание исследователей к ГА и его производным, поэтому число публикаций на эту тему огромно. Ниже приводятся лишь основные характеристики ГА, необходимые для понимания сути трансформации азотсодержащих компонентов в природных водах, один из этапов которых проходит через ГА.

### Строение и свойства.

Судя по названию, гидроксиламин есть продукт замещения водорода аммиака гидроксильной группой и имеет химическую формулу,  $\text{NH}_2(\text{OH}) = \text{NH}_2\text{OH}$ .

При комнатной температуре чистый ГА обычно белое кристаллическое вещество следующего строения:

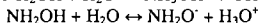


В твердом состоянии молекула  $\text{NH}_2\text{OH}$  существует в виде двух пространственных изомеров. Ряд физико-химических свойств ГА приведен в таблице П1.

Таблица П1. Физико-химические характеристики гидроксилamina

Систематическое наименование	Гидроксилamin
Молекулярная формула	$\text{NH}_2\text{OH}$
Молярная масса	$33.0298 \text{ г/моль}^{-1}$
Внешний вид	Белые иглы или хлопья
Плотность	$1.21 \text{ г/см}^{-3}$ при $25^\circ\text{C}$ , $1.335 \text{ г/см}^{-3}$ при $10^\circ\text{C}$
Растворимость в воде	Растворим в холодной воде, разрушается в горячей
Растворимость в других растворителях	Растворим в метаноле, этаноле, жидком аммиаке. Слабо растворим в эфире, бензоле, хлороформе, дисульфиде углерода
Константа диссоциации в воде	$K_{298} = 6,6 \cdot 10^{-9}$
Температура плавления	$32-33^\circ\text{C}$
Давление пара при $32^\circ\text{C}$	705 Па
Температура кипения	$110^\circ\text{C}$
Степень окисления азота	-1
Стандартная энтальпия образования	$-39.9 \text{ кДж/моль}$
$\Delta H_{\text{пл}}^0$	$16,5 \text{ кДж/моль}$
$\Delta G_{\text{обр}}^0$	$-17,4 \text{ кДж/моль}$
$\Delta H_{\text{возг}}^0$	$64,2 \text{ кДж/моль}$
$S_{298}^0$	$236,07 \text{ Дж/(моль К)}$
Кристаллическая решетка	Ромбическая

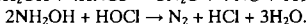
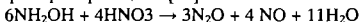
Это неустойчивое, весьма гигроскопическое вещество, поэтому почти всегда приходится иметь дело с его водными растворами. В водном растворе ГА диссоциирует по кислотному ( $pK_a$  14,02) и основному ( $pK_a$  5,97) типу:



ГА, как и другие азотсодержащие соединения с отрицательной степенью окисления, такие как гидразин и аммиак, имеет неподеленную электронную пару, которая достаточно прочно удерживает протон, в результате чего при его растворении в воде создается щелочная среда. ГА - слабое основание и по этому свойству занимает промежуточное положение между аммиаком и водой.

При постепенном добавлении ГА (или гидразина) к растворам солей металлов они вначале осаждают малорастворимые гидроксиды или основные соли, а при добавлении их в избытке растворяют осадки.

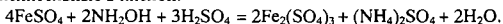
В кислом водном растворе ГА устойчив, однако ионы переходных металлов катализируют его распад, поэтому к раствору добавляют комплексоны или другие связывающие их вещества. В щелочном (pH 12-13) растворе ГА окисляется кислородом воздуха с образованием  $NO_2^-$  и  $H_2O_2$ . Разбавленные водные растворы солей ГА довольно устойчивы, тогда как концентрированные быстро разлагаются с образованием  $NH_3$ ,  $N_2$ ,  $N_2O$ . Окислители обычно переводят ГА либо в  $N_2O$ , либо в  $N_2$ , например по реакциям [61]:



В свободном состоянии и водном растворе ГА может реагировать и как окислитель, и как восстановитель. Например, он восстанавливает Fe(III) до Fe(II), Cu(II) до Cu(I), Pu(IV) до Pu(III). Сильные восстановители (HI,  $H_2S$ ,  $SnCl_2$ , цинковая пыль и др.) восстанавливают его до  $NH_3$ . Восстановительные свойства наиболее ярко проявляются в щелочной среде:



а окислительные в кислой:



Иногда изменение характера среды полностью меняет поведение гидросиламина. Например, в уксуснокислой среде он восстанавливает  $I_2$  до HI, а в сильно солянокислой – окисляет HI до  $I_2$  [62].

При нитрозировании ГА по атому N образуются азотноватистая кислота  $\text{H}_2\text{N}_2\text{O}_2$  и ее соли - гипонитриты, а при нитровании - соли азотоватой кислоты  $\text{H}_2\text{N}_2\text{O}_3$  (гипонитраты).

Гидроксиламин, являясь слабым основанием, с сильными кислотами образует соли, содержащие катион гидроксиламмония  $\text{NH}_3\text{OH}^+$ , которые в воде гидролизуются по катиону и создают кислые растворы [62].

Из солей наиболее важны хлорид  $\text{NH}_3\text{OHC1}$  (т. пл.  $1524^\circ\text{C}$ ; плотн.  $1,67 \text{ г/см}^3$ ), сульфат  $(\text{NH}_3\text{OH})_2\text{SO}_4$  (т. пл.  $172^\circ\text{C}$ ) и перхлорат  $\text{NH}_3\text{OHC1O}_4$  (т. пл.  $89^\circ\text{C}$ , плотн.  $2,07 \text{ г/см}^3$ ). Все три соли - бесцветные кристаллы с моноклинной решеткой; хорошо растворимы в воде, хлорид и перхлорат - также в спиртах и ацетоне. Хлорид и сульфат начинают медленно разлагаться ниже температур плавления, перхлорат - выше  $100^\circ\text{C}$  [93].

Кислотная функция у ГА выражена слабо и в водных растворах его малостабильные соли, типа  $\text{NaH}_2\text{NO}$  и  $\text{Ca}(\text{H}_2\text{NO})_2$ , существовать не могут.

Благодаря наличию неподеленных электронных пар на атомах азота и кислорода ГА легко образует прочные комплексы, например:  $[\text{Zn}(\text{NH}_2\text{OH})_2\text{Cl}_2]$ ,  $\text{Pt}(\text{NH}_2\text{OH})_4\text{Cl}_2$ ,  $[\text{Ni}(\text{NH}_2\text{OH})_n]\text{Cl}_2$ , в которых молекула ГА является лигандом и связана с атомом металла через атом азота [91]. Существуют гидроксиламинные комплексные соединения, в которых связь с атомом металла осуществляется через атом кислорода; это соли кристаллического типа, которые устойчивы до  $100^\circ\text{C}$  и менее гигроскопичны, чем соответствующие простые соли и свободный ГА.

Атомы водорода в молекуле ГА могут быть легко замещены на различные неорганические и органические остатки, что используется во многих синтезах и анализе.

ГА термически нестабилен и медленно распадается выше температуры плавления; основные продукты распада -  $\text{NH}_3$ ,  $\text{N}_2$  и  $\text{H}_2\text{O}$ . ГА взрывоопасное вещество, причем на основе теоретических представлений не всегда можно предусмотреть возможность этого события. С 1999 г. известно по крайней мере два случая взрыва, происшедших на предприятиях, имеющих дело с ГА, и закончившихся большими разрушениями и человеческими жертвами. Возможно, проявляя и окислительные и восстановительные способности, ГА склонен к реакциям самоокисления-самовосстановления, с чем может быть связана его

взрывоопасность. Чтобы снизить редокс-активность, ГА обычно переводят в соли.

Токсичность. ГА и его соли являются ядом для крови: разрушая красные кровяные тельца, они способствуют образованию метгемоглобина и гематина; при этом кровь становится коричневой – в ней легко обнаруживается азотистая кислота. Причиной отравления гидроксиламином собственно и является образование азотистой кислоты, которая особенно ядовита именно в момент образования. Опыты показали, что ГА действует не только на оксигемоглобин крови, но и на нервные центры. При попадании ГА и его солей на кожу при разбавлении 1:1000 появляются пузыри и образуются нагноения.

Установлена связь между изменением свойства крови и воздействием ГА на центральную нервную систему. Если вводить небольшие дозы ГА, то происходит постепенное разрушение крови без каких-либо внешних симптомов. При введении больших доз происходит паралич всей центральной нервной системы. Почти сразу после введения яда начинаются судороги. Смертельная доза - 0,15-0,20г.

Гидроксиламин высокоспецифичный мутаген, прямо воздействующий на ДНК. Он реагирует почти исключительно с цитозином и дает производное, которое спаривается с аденином, а не с гуанином, то есть происходит транзигция только в одном направлении. Это соединение также расщепляет пептидные связи в белках, образованные аминокислотами аспарагином и глицином, вызывает превращения гемоглобина в метгемоглобин. ГА является токсичным как для бактерий, так и для человека. Большие его дозы останавливают рост и развитие микроорганизмов. Высокая токсичность ГА определяется его большой проникающей способностью в клетки организмов через натриевые каналы. Проницаемость его в клетку почти такая же, как у натрия - 0.94, против 1.00. Раствор ГА даже при разбавлении 1: 15000 губительно действует на низшие грибы и бактерии [81].

Большой обзор по токсикологии ГА представлен Проданчук и др. [68]. В этой работе подчеркивается, что «соединения ГА образуются в организме в процессе токсикокинетики многих ксенобиотиков-окислителей (сульфаниламидных препаратов, особенно дапсола, соединений ароматического ряда и др.), что сопровождается образованием метгемоглобина (МгНб).

Гидроксиламино- и нитрозобензолдериваты выделены как промежуточные продукты биотрансформации анилина, N-алкиланилинов,

фенетидина, р-хлоранидина, р-нитрохлорбензола, парааминопропиофенона и многих других соединений.

Экспериментальные и клинические исследования показали, что ГА и его соединения обладают уникальными биологическими эффектами, характеризующимися в сравнении с другими ксенобиотиками-окислителями, более быстрым и интенсивным формированием токсической метгемоглобинемии (ТМ) и выраженной гемолитической анемии с гемической гипоксией, что обусловило их широкое использование в качестве модельных препаратов при изучении патологии, вызываемой ксенобиотиками-окислителями, а также для оценки эффективности лечебных средств, корригирующих ТМ и гемолитическую анемию в эксперименте *in vitro* и *in vivo*. Наиболее ярким проявлением ТМ при воздействии соединений ГА является гемолитическая анемия, однако механизмы её формирования окончательно не установлены, что затрудняет проведение эффективной терапии.

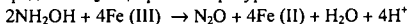
Системные изменения в организме при воздействии ГА обусловлены не только гемотоксическими эффектами, но и его общетоксическим действием».

С другой стороны, ГА рекомендуется к применению в качестве антидота при отравлении цианидами совместно с нитритом натрия [103]. Гидроксилламин употребляется в медицине в виде хлористоводородной соли. Раствор (1.4-1.5 %) служит лекарственным препаратом при лечении многих кожных болезней: волчанки, лишая, экземы и др.

#### **Методы определения.**

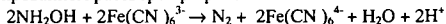
Поскольку гидроксилламин легко переходит из одного состояния окисления в другое, то для его определения в лаборатории обычно используют методы окислительно-восстановительного титрования. Прописи многих из них содержатся в различных сводках [7, 21, 25].

Количественное окисление сульфатом трехвалентного железа происходит в среде 2N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> при температуре кипения:



После охлаждения раствора железо (II) оттитровывают перманганатом. Определению не мешают соли аммония и небольшие количества хлорид-ионов.

Ферроцианидом гидроксилламин окисляется до молекулярного азота в буферированном растворе при pH 8-9:



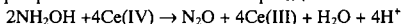
Образовавшийся ферроцианид титруется сульфатом церия в качестве индикатора.

ГА легко окисляется броматом и гипобромитом до азотной кислоты. Окисление броматом в присутствии HCl протекает по реакции:



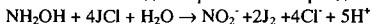
Избыток бромата определяется иодометрически при добавлении раствора иодида калия и титровании стандартным раствором тиосульфата до конечной точки, устанавливаемой с помощью крахмала. Метод с гипобромитом требует более тщательного соблюдения необходимых условий проведения реакции.

Окисление солями церия (IV) с четырехокисью осмия в качестве катализатора протекает количественно по реакции:



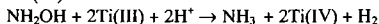
Прямое титрование не применяют из-за малой скорости окисления. ГА кипятят с раствором церия в течение 3 минут, раствор охлаждают, титруют мышьяковистой кислотой с ферроином в качестве индикатора конечной точки.

Гидроксиламин окисляется до нитрита монохлоридом по реакции:



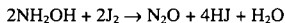
Избыток монохлорида определяют обратным титрованием раствором сульфата гидроина.

Гидроксиламин может быть восстановлен количественно до аммиака раствором Ti(III):

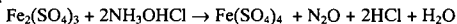


Избыток хлорида трехвалентного титана оттитровывают стандартным раствором железа (III), используя роданид как индикатор.

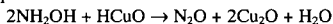
Избытком йода в присутствии MgO или  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  ГА окисляется по уравнению:



Избытком  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$  при 80-90°C с обратным титрованием раствором перманганата:



Раствором Фелинга в разбавленном щелочном растворе. Реакция протекает по уравнению:



ГА может быть определен методами амперометрического титрования: стандартным раствором титана в присутствии щавелевой кислоты при 50°C с капельным ртутным электродом; при помощи Ce(IV), без

наложения э.д.с. с использованием платинового и насыщенного каломельного электродов. Последний метод пригоден для прямого титрования  $\text{N}_3^-$ ,  $\text{NH}_2\text{OH}$  и обратного титрования  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{N}_2\text{H}_4$ .

Небольшие количества ГА чаще всего определяют колориметрически. Они, главным образом, основаны на реакциях с нитропруссидом Na, бензоилхлоридом и  $\lambda$ -оксихинолином. Реакция взаимодействия ГА с избытком  $\lambda$ -оксихинолинола в присутствии этилового спирта и соды приводит к образованию индоксина. Соединение дает максимум поглощения при 705 мкм. Подчинение закону Бэра наблюдается в области от 0 до  $5 \cdot 10^{-2}$  ммоль/мл раствора. Один из спектрофотометрических методов определения  $\text{NH}_2\text{OH}$  основан на образовании в щелочной среде (рН 8-12) фиолетового комплекса в присутствии  $\text{V}^{5+}$  и триэтаноламина.

Ряд методов базируется на перевождении ГА в итриты с последующим СФ методом определения образовавшегося продукта. Оптимальные условия для окисления ГА до итритов элементарным иодом - комнатная температура, продолжительность реакции 10 минут. Количество образовавшейся азотистой кислоты затем определяют с помощью реактива Грисса.

Электрохимические методы, используемые для определения соединений азота, представлены следующими вариантами; вольтамперометрия (полярография) - прямая и инверсионная; кондуктометрия; кулонометрия - определение при контролируемом потенциале или контролируемом токе; хронопотенциометрия; потенциометрия - определение по величине потенциала электрода (в том числе с использованием ионоселективных электродов).

Гидроксиламин восстанавливается обратимо в двухэлектронном процессе в растворе с рН 6-7. 0.05-1,0 ммоль ГА могут быть определены с обычной точностью, характерной для полярографического метода.

При анодном окислении ГА на платинированном-платиновом вращающемся электроде при рН 2.0 наблюдается хорошая линейная зависимость концентрация - предельный ток в диапазоне  $1 \cdot 10^{-5}$  -  $5 \cdot 10^{-4}$  М.

ГА может быть определен кулонометрическим титрованием электрогенерированным бромом в кислой среде. При этом бром окисляет гидроксиламин до нитрат-иона.

Предложен ряд методов хроматографического разделения ГА и ГИ, хлорида аммония, гидразина и гидроксиламина, а также метод разде-



ления для аммиака, ГА, ГИ, гипонитрита, нитрита и нитрата с помощью ионофореза.

По газометрическому методу определения ГА в нейтральной среде окисляют перманганатом, при этом образуются смеси NO и N<sub>2</sub>O, которые замеряют и рассчитывают количество ГА. Точность определения до 0.5%.

Возможности применения перечисленных методов для анализа природных вод крайне ограничены из-за низкой чувствительности.

Прямые определения гидроксилamina в природных водах трудны не только из-за его низкой концентрации, но и высокой лабильности. Водные растворы могут быть легко окислены атмосферным кислородом. Сообщалось, что миллимолярные растворы гидроксилamina в присутствии воздуха устойчивы в течение нескольких часов при pH 4.0, но только 60 мин при pH 7.8 [113]. Более того, следовые количества ионов переходных металлов катализируют его автоокисление. Тем не менее, относительная кинетика двух противоположных реакций - микробной продукции и автоокисления - может позволить гидроксилмину аккумулироваться даже в природных окисгенированных водах.

Для определения очень низких концентраций в водных экосистемах предложены два метода: 1 - газохроматографический, с предварительным переводением ГА в закись азота, концентрировании последнего при температуре жидкого азота и детектировании его с помощью детектора по захвату электронов [110, 167], 2- спектрофотометрический, основанный на реакции окисления ГА до нитритов и последующем их определении с помощью реакций диазотирования и азосочетания [121,124, 176].

Из-за высокой чувствительности и удовлетворительной для многих целей точности до сих пор оба метода представляют значительный практический интерес и мы остановимся на некоторых прописях методов подробнее.

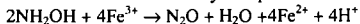
Газохроматографический метод. По данным американских исследователей [110], предложенный ими метод применим для определения *нанограммовых* концентраций ГА. Метод линейен в пределах 1.2-560 нМ. Относительное стандартное отклонение составляет 4% при 12.5 нМ. Высокая чувствительность высокотемпературного детектора по захвату электронов позволяет обходиться относительно небольшими объемами образцов. Пробы морской воды (около 20 мл) отбираются в специальные газоотборники объемом 25 мл. В каждую колбочку вво-

дят определенное количество 40 мМ раствора  $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2$  до конечной концентрации 200 мкМ  $\text{Fe}^{3+}$ . Слянки подсоединяют к хроматографу и образовавшуюся  $\text{N}_2\text{O}$  газом-носителем ( $\text{He}$ ,  $\text{N}_2$ ) вытесняют в абсорбер с молекулярным ситом 5А (или 13Х), помещенный в сосуд со льдом или жидкий азот. После завершения поглощения  $\text{N}_2\text{O}$  абсорбер быстро (в течение 2 мин) нагревают до температуры 250 °С. Анализ проводится с помощью детектора с тритиевым источником. Хроматографическая колонка длиной 3 м и диаметром 3.2 мм заполнена молекулярным ситом 5А размером 60/80 меш. Условия анализа следующие: температура колонки 250°, температура детектора 320°, скорость газа носителя 30 мл/мин. Внешний сигнал подается на самописец и пики автоматически интегрируются. Время удерживания  $\text{N}_2\text{O}$  около 4.5 мин, общее время анализа 17 мин. Эта схема анализа первоначально была предложена Кози [118] для измерения  $\text{N}_2\text{O}$  в морской воде.

Улучшенный метод определения ГА на наномолярном уровне, включающий окисление трехвалентным железом с последующим измерением закиси азота на газовом хроматографе, снабженным детектором по захвату электронов представлен другой группой исследователей [112, 114]. Исследовано влияние на реакцию содержания кислорода, меди, ртути. Метод линейен до более чем 300 нМ, а стандартное отклонение при обычных измерениях в интервале 0-40 нМ составляет 1 нМ, что превышает чувствительность спектрофотометрических методов почти на порядок. Этот метод устраняет эффекты рН и солёности, которые были присущи более ранним газохроматографическим подходам, и делает возможным исследования не только в морских, но и в пресных водах, как чистых, так и загрязнённых.

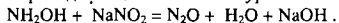
Для измерения *микрограммовых* концентраций  $\text{N}_2\text{O}$  нет необходимости проводить абсорбцию закиси азота на молекулярных ситах при низких температурах с применением жидкого азота или твердой окиси углерода, что значительно усложняло анализ. Ранее нами был разработан метод определения нитритов путем перевода их в закись азота с помощью сульфата гидразина и последующем детектировании  $\text{N}_2\text{O}$  на газовом хроматографе с ЭЗД (источник  $^{63}\text{Ni}$ ) [12]. Этот подход открывает простой путь к определению гидроксилamina. Рассматривается 2 варианта.

Первый вариант базируется на методе Брейман [110] в котором для перевода ГА в закись азота используется реакция:



Ход определения: Точно отмеренные (по 12 мл) исследуемые пробы наливают в калиброванные пенициллиновые склянки объемом около 15мл, добавляют по 0.25 мл  $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  с концентрацией 20 мкмоль. Объемы газовой фазы над раствором должны быть равными! Склянки плотно закрывают резиновыми пробками и укрепляют специальными зажимами. Встряхивают и оставляют до завершения реакции и установления газового равновесия, которое в лабораторных условиях завершается через 3-4 часа. Далее шприцом объемом 1 мл отбирают газовую фазу, содержащую часть образовавшейся  $\text{N}_2\text{O}$ , и вводят в газовый хроматограф. Температура детектора  $320^\circ\text{C}$ , колонки –  $36^\circ\text{C}$ . Газ-носитель – чистый азот пропускается со скоростью 35 мл/мин. Колонка длиной 1.5 м заполнена порпаком – Q. Закись азота выходит вслед за кислородом через 4 мин. Метод позволяет надежно определять 1-2 мкгN- $\text{NO}_2'$ .

Второй вариант. Хорошо известно, что гидроксилламин довольно легко реагирует с нитритом натрия с выделением закиси азота, причем реакция должна проходить в соответствии с уравнением:



Сравнение стехиометрии реакций ГА с железоаммонийными квасцами и нитритами показывает, что если в первом случае одна молекула закиси азота образуется из двух молекул ГА, то во втором случае уже только одна молекула гидроксилламина приводит к образованию такого же количества закиси азота, какое в предыдущем уравнении давали две молекулы. Поскольку детектирование идет по конечному продукту ( $\text{N}_2\text{O}$ ), то это обстоятельство (при прочих равных условиях) позволяет в два раза повысить предел обнаружения ГА, что весьма важно при определении очень низких концентраций этого продукта в природных водах. Анализ проводится следующим образом: пенициллиновые склянки установленного объема (около 15мл) заполняются исследуемой пробой воды, из них пипеткой удаляются по 3мл лишней пробы. Таким образом, объем газовой фазы составляет строго 3мл. Содержимое склянок подкисляется и в них добавляется по 0.25 мл концентрированного раствора нитрита натрия. Каждая склянка после добавления нитрита быстро закрывается мягкой резиновой пробкой, которая закрепляется специальным зажимом. Содержимое склянок тщательно перемешивается и оставляется на 2 часа до газохроматографического анализа. В дальнейшем ход анализа аналогичен предыдущему варианту.

К преимуществам этого варианта газохроматографического метода перед колориметрическим можно отнести:

1. отсутствие необходимости консервации проб или немедленного проведения анализа (пробы могут храниться без потери закиси азота в течение длительного времени);
2. возможность сбора и доставки в хорошо оборудованные стационарные лаборатории большого количества проб и последующий быстрый их анализ;
3. возможность определения ГА в мутных и высокоцветных водах без какой-либо дополнительной химической обработки

В то же время спектрофотометрический метод Фиадейро и др. [121, 176], базирующийся на оригинальной работе [40] может быть использован в относительно малооборудованной лаборатории.

## Приложение 2.

### Гидразин.

Гидразин (ГН) вещество, открытое в конце XIX века. В 1885 г. Фишер восстановлением диазосоединений получил продукты, которые он назвал гидразосоединениями, а типовое вещество, тогда ещё не выделенное, гидразином. В 1887 году Курциус получил гидразин в виде его сульфата из диазоуксусного эфира, а затем и водные растворы самого гидразина, подтвердив тем самым предположение о существовании такого азотоводорода. В 1894 году получен безводный гидразин. В настоящее время известно огромное количество производных этого соединения [93].

Гидразин и его соединения широко используются в химическом анализе в качестве энергичных восстановителей при потенциометрических определениях различных веществ, в том числе в объектах окружающей среды [190]. В аналитической химии сульфат ГН служит установочным веществом при окислительно-восстановительных титрованиях [7]. Применяют в препаративной неорганической и органической химии, фармахимии для получения лекарственных средств (например, противотуберкулезных - гидразида изоникотиновой кислоты), сельском хозяйстве и электротехнической промышленности, в производстве пластмасс, резины, инсектицидов, взрывчатых веществ, крашении тканей, флотации медь- и золотосодержащих руд, для получения чистых металлов (Cu, Ni и др.) из их оксидов и солей. ГН, его соли и гидраты применяют: в производстве порообразователей, инсектицидов, регуляторов роста растений.

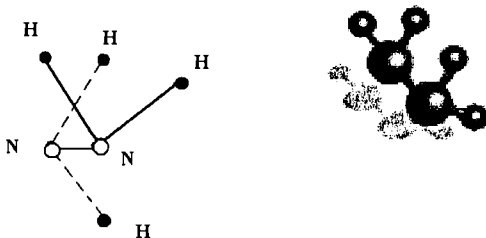
На основе ГН созданы топливные элементы. Сам гидразин и особенно его производные, такие как несимметричный диметилгидразин (НДМГ) и Аэрозин, широко распространены как ракетные горючие. Более 60-ти лет назад, в Германии во время второй мировой войны двухкомпонентным топливом, одним из которых был гидразин, управлялись некоторые реактивные истребители и неуправляемые реактивные снаряды. Гидразин активно используется в системах парогенерации в качестве идеального акцептора кислорода и вещества, способствующего удалению ржавчины и замедляющего и даже предотвращающего процессы коррозии металла при высоких давлениях и температурах.

Спектр приложений гидразина и его производных огромен. По химии ГН и его производным опубликован ряд монографий и крупных обзоров [33, 34, 45, 49 и др.]. В них изложены сведения о химических,

термодинамических и физических свойствах гидразинов. Приводятся данные об использовании гидразинов в аналитической, неорганической и органической химии, медицине, ракетной технике, топливных элементах и др. В связи с промышленным производством гидразина в крупных масштабах и их широким использованием в народном хозяйстве освещаются проблемы обезвреживания и очистки промышленных стоков и охраны воздушного бассейна, вопросы токсикологии гидразинов, техники безопасности и охраны труда.

### Строение и свойства гидразина (ГН).

Химическая формула гидразина  $\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$ . При комнатной температуре чистый ГН представляет собой бесцветную жидкость, дымящуюся на воздухе. Ниже температуры  $3^\circ\text{C}$  ГН кристаллизуется в белое кристаллическое вещество. В твердом состоянии молекула  $\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$  существует в виде трех пространственных изомеров. Взаимное пространственное расположение атомов (конформация) энергетически наиболее выгодна при следующей структуре:



Угол поворота обеих групп  $\text{NH}_2$  в приведенной на схеме гауш-конформации относительно цис-положения составляет около  $90^\circ$ . Длина связи между атомами азота  $d(\text{NN})=0.145\text{нм}$ , атомом азота и водородом  $d(\text{NH})=0.102\text{нм}$ . Угол  $\text{NNH}$  равен  $112^\circ$ ,  $\text{HNN} - 106^\circ$  [61, 93].

Важнейшие физико-химические свойства ГН приведены в таблице П2.

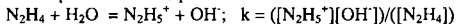
Таблица П2. Физико-химические характеристики гидразина [34, 36, 61, 63, 93].

Систематическое наименование	Гидразин (диамид)
Молекулярная формула	$\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$
Молярная масса	32.0298 г/моль <sup>-1</sup>
Внешний вид	Твердый - белые кристаллы. Жидкий - бесцветная жидкость.
Плотность	1.146 г/см <sup>-3</sup> при -5°C, 1.011 г/см <sup>-3</sup> при +15 °C
Растворимость в воде	В любых соотношениях. Образует моногидрат и тетрагидрат.
Растворимость в других растворителях	Растворим в метаноле, этаноле, жидком аммиаке. Слабо растворим в неполярных растворителях - эфире, бензоле, хлороформе.
Константа диссоциации в воде	$K_{298} = 6,6 \cdot 10^{-9}$
Температура плавления	1.5-3.0 °C
Давление пара при 25°C	18.6 гПа
Температура кипения	113.5 °C (при 760 мм рт. ст.)
Степень окисления азота	-2
Стандартная энтальпия образования	-39.9 кДж/моль
$\Delta \text{H}_{\text{пл}}^0$	12.66 кДж/моль
$\Delta \text{H}_{\text{обр}}^0$	50.5 кДж/моль
$S_{298}^0$	121.3 Дж/(моль К)

Замерзает гидразин при температуре +1.5°, кипит при температуре 113.5° (давление 760 мм рт. ст.). Удельный вес вещества колеблется в зависимости от его агрегатного состояния и температуры окружающей среды. При температуре минус 5° плотность твердого гидразина составляет 1.146, жидкого при температуре 0° -1.0253, а при температуре +15° -1.0114. По мере дальнейшего возрастания температуры удельный вес соединения уменьшается. Гидразин хорошо растворяется в воде, спиртах, аммиаке, аминах, нерастворим в углеводородах и их галлондопроизводных.

Гидразин - полярная, сильно ассоциированная жидкость (через водородные мостки).

На основании измерений электропроводности для моногидрата получено значение константы диссоциации  $k=2.7 \cdot 10^{-6}$ , т.е. гидрат ГН как основание в 8 раз слабее гидроокиси аммония.



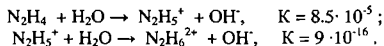
Это и понятно, если представить себе ГН как аммиак, в котором 1 атом водорода замещен более электроотрицательной группой  $\text{NH}_2$ .

Водный раствор ГИ образует азеотропную смесь, кипящую при  $120.5^\circ\text{C}$  (771 мм. рт. ст.) и содержащую 58.5 моль гидразина. Это соединение названо гидратом гидразина. Это малоподвижная жидкость со своеобразным запахом, дымит на воздухе, обладает щелочными свойствами, температура кипения 739.5 мм рт. ст. при  $118.5^\circ\text{C}$ , при сильном охлаждении застывает в пластинчатую массу, которая плавится при  $-40^\circ\text{C}$ . Притягивает углекислый газ из воздуха, не разрушается при кипячении, на воздухе окисляется до  $\text{N}_2$ .

Имеются сомнения по поводу существования  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  как такового в водном растворе или в виде жидкости. На основании данных физико-химического исследования системы гидразин - вода делается вывод, что соединения ГН и воды в эквимольном соотношении существуют только в твердом состоянии; в жидкой же фазе, по-видимому, существует равновесие  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} = \text{N}_2\text{H}_4 + \text{H}_2\text{O}$ , которое с повышением температуры смещается вправо.

Помимо моногидрата с водой образует тетрагидрат (т. пл.  $-80^\circ\text{C}$ , температура эвтектики моногидрат-тетрагидрат  $-87^\circ\text{C}$ ), а также азеотроп (58.5 мол. % ГН; т. кип.  $120.5^\circ\text{C}$ ). Жидкий ГН ассоциирован и слабо ионизован ( $2\text{N}_2\text{H}_4\text{N}_2\text{H}_5^+ + \text{N}_2\text{H}_3^-$ ;  $K=10^{-13}$ ).

В водном растворе ГН образует одно- и двухзарядные ионы гидразония:

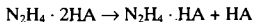


Известно большое число солей, отвечающих обоим ионным формам.

Подобно гидроокиси аммония гидроокись гидразония  $\text{N}_2\text{H}_5\text{OH}$  осаждает из растворов солей ряда металлов соответствующей валентности их гидроокиси:  $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Fe}(\text{OH})_2$ ,  $\text{Al}(\text{OH})_3$ , осаждает  $\text{Mn}(\text{OH})_2$  из манганатов и перманганатов и  $\text{Cr}(\text{OH})_3$  из хроматов.

Будучи основанием, гидрат гидразина образует с кислотами соли. Он дает соединения типа  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{HA}$ , но также и  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot 2\text{HA}$ . В водном растворе двойные соли гидрата гидразина существовать не могут, т.к. тотчас происходит разложение по схеме:





Будучи донором электронных пар, ГН может образовывать молекулярные комплексы типа  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{L}$  и  $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot 2\text{L}$ .

ГН – хороший растворитель многих солей, в частности  $\text{LiCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{NaNO}_3$ ,  $\text{NaClO}_4$ ,  $\text{Mg}(\text{ClO}_4)_2$ . Большинство их кристаллизуется из безводного ГН и гидразингидрата в виде прочных сольватов, например  $[\text{Li}(\text{N}_2\text{H}_4)_2]\text{ClO}_4$ ,  $[\text{Mg}(\text{N}_2\text{H}_4)_2](\text{NO}_3)_2$ .

Гидразин является очень сильным восстановителем; некоторые соли переходных металлов восстанавливаются им до металлов.

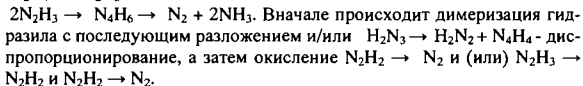
Окислители ГН по Броуну и Шеттерли объединяются в 3 группы по тому, какие продукты получаются в результате реакции. Предполагается, что на первой стадии окисления образуется радикал  $\text{N}_2\text{H}_3$ , который при применении каждой отдельной группы окислителей конденсируется в различной степени с образованием различных друг от друга промежуточных азотоводородов (тетрацен, изотетрацен и т.д.). Дальнейшее их разложение приводит к образованию либо  $\text{NH}_3$  и  $\text{N}_2$ , либо  $\text{NH}_3$  и азотистоводородной кислоты. Выделение молекулярного азота принимается протекающим без образования промежуточных продуктов.

Первая группа - одноэлектронные (моноэлектронноакцепторные) окислители. К ним относятся  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{Mn}^{3+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Au}^+$ . Они окисляют ГН до  $\text{N}_2$  или до смеси  $\text{N}_2$  и  $\text{NH}_3$ .

Вторая группа - двухэлектронные (дизлектронноакцепторные).  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,  $\text{S}_2\text{O}_8$ ,  $\text{ClO}_3$ ,  $\text{HAuCl}_4$ . Образуют  $\text{HNO}_2$ .

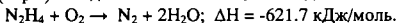
Третья группа - окислители, восстановление которых происходит через ряд промежуточных стадий, включая в себя и те и другие процессы ( $\text{JO}_3$ ,  $\text{MnO}_4$ ,  $\text{VO}_3$ , галогены).

Хиггинсон предлагает следующий механизм окисления:

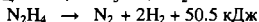
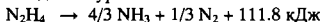


ГН интенсивно окисляется атмосферным кислородом до  $\text{N}_2$ ,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ . В щелочной среде окисляется медленно, ионы переходных металлов, особенно  $\text{Cu}^{2+}$ , ускоряют эту реакцию. Образует взрывоопасные смеси с воздухом и кислородом; в присутствии асбеста, угля, оксидов  $\text{Cu}$ ,  $\text{Fe}$ ,  $\text{Hg}$  и др. способен к самовоспламенению. В воздухе температура вспышки  $270^\circ\text{C}$ , в чистом  $\text{O}_2$  и в присутствии металлов и их

оксидов температура вспышки понижается. На воздухе горит синим пламенем (пары) с выделением большого количества тепла:



ГН термически малостабилен. Распад его в жидком и газообразном состояниях происходит по уравнениям:



В отсутствие катализаторов при 200-300 °С преобладает первое направление.

Как отмечалось выше, ГН является идеальным акцептором кислорода с точки зрения техники водо- и пароподготовки в котлах ТЭЦ, где подаваемая вода, линии подачи, накопители до подачи в нагревательное устройство и другая аппаратура должны быть защищены от вредного воздействия молекулярного  $\text{O}_2$ . Следующие основные свойства определили широкое применение ГН как для парогенераторных систем высокого давления, так и деаэрационных систем: 1. Реакция ГН с кислородом протекает довольно быстро, 2. ГН образует и поддерживает постоянный барьер в виде магнетита на внутренних поверхностях, 3. Не разлагается и не образует продукты коррозии. 4. Он совместим с прочими химикатами для обработки котлов и не ухудшает качество воды, способствуя образованию потенциально вредных растворенных веществ (в данном случае продуктами реакции являются кислород и азот). 5. Не образует продуктов кислотного характера, которые вызывают коррозию стали котла.

ГН и его водные растворы сильно ядовиты. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) считает гидразин и его производное - несимметричный диметилгидразин (гептил) - одними из наиболее токсичных веществ в связи с их чрезвычайной опасностью для здоровья и жизни людей даже в самых малых дозах. Это вещества первого класса опасности. Гептил в 6 раз токсичнее синильной кислоты. ПДК гидразина 0.1 мг/г<sup>3</sup>, пороговая концентрация, приводящая к минимальным нарушениям высшей нервной деятельности 0.02 мг/л, концентрация 0.0039 мг/л переносится 60 мин, 0.013 мг/л-10 мин, смертельная концентрация 1-2 мг/л [92].

С другой стороны, производные гидразина находят все более широкое применение в клинической медицине: их назначают в качестве противотуберкулезных препаратов (тубазид, фтивазид и др.), ингибиторов моноаминоксидазы, антибластоматозных средств. Сульфат ГН находит применение при лечении неоперабельных злокачественных

опухолей, таких как рак легкого, молочных желез, желудка, поджелудочной железы, гортани, шейки матки и др. [88].

В связи с широкомасштабным применением ГН и его производных, особенно в сфере ракетно-космической деятельности, их высокой токсичности и канцерогенности, всесторонним исследованиям их влияния на человека, животных, рыб, водорослей, микроорганизмов, грибов и т.д. посвящено огромное количество работ. Большой обзор по токсикологии ГН представлен Всемирной организацией здравоохранения [195], составленный в рамках Международной программы по химической безопасности, и Международным агентством по изучению рака [133]. Фармакологии и химии ГН посвящена монография [49]. За последние годы на русском языке опубликованы три обзора по химии и токсикологии ГН и его производных [6, 42, 90]. Здесь отметим только высокую опасность ГН и его производных для человека; они раздражают слизистые оболочки, глаза и дыхательные пути, поражают центральную нервную систему и печень. Существенным в этой связи является то, что характерный запах ряда гидразинопроизводных ощущается лишь в первые минуты контакта с ними. В дальнейшем вследствие адаптации органов обоняния, это ощущение исчезает, и человек, не замечая того, может длительное время находиться в зараженной атмосфере, содержащей токсические концентрации названного вещества.

### **Методы определения.**

Наиболее часто применяемый метод – это простой колориметрический анализ, основывающийся на реакции с парадиметиламинобензальдегидом. Имеются разнообразные инструменты, обеспечивающие различную степень точности: от недорогих цветосравнивающих устройств до спектрофотометров и автоматических анализирующих устройств.

Основные свойства гидразина - высокая восстанавливающая способность и способность конденсироваться с альдегидами, образуя азины, часто используются для его качественного обнаружения. Чаще всего использовали бензальдегид, при взаимодействии с которым гидразин в щелочной или нейтральной среде образует кристаллическое вещество желтого цвета. Используют также салициловый альдегид и реакцию образования оранжево-красного азина 2-нитронндаидиона-1,3. Специфично и удается при очень большом разбавлении капельное обнаружение гидразина в виде парадиметиламинобензальдезида. Эта

реакция оказалась удобной и для визуального колориметрического определения в воздухе [78]. Для качественного обнаружения и количественного определения гидразина предложен целый ряд органических реактивов: пикрилхлорид, ванилин, ангидрид-бис-индандиол, диазотированный парааминобензальдегид, Na-1,2-нафтохинон-4-сульфонат и др. В отсутствие других восстановителей ГН может быть обнаружен с помощью Фелинговой жидкости (образование желто-красной окраски раствора или осадка), солей серебра, двухвалентной ртути, трехвалентного золота (восстановление до металла), по образованию красного элементарного селена из селенитов, молибденовой сини, обесцвечиванию  $J_2$  и перманганата, восстановлению бихромата и т.д. [21, 83].

Все возрастающие требования к минимизации содержания ГН в водных объектах и связанные с этим повышенные требования к чувствительности аналитических методик, в последнее десятилетие вызвали всплеск работ по разработке новых методов его определения. Этот список включает спектрофотометрические, потенциометрические, газохроматографические, методы ВЭЖХ. Из них отметим лишь некоторые.

Для непрямого определения ГН в пределах 1- 800 нг/л предлагается потенциометрический метод, с использованием специально синтезированного обладающего магнитными свойствами нового типа полимера. Сей полимер, технологически выполненный в виде микросфер, на своей поверхности содержит альдегидные группы, которые реагируют с ГН с образованием электроактивного аддукта. Потенциал восстановления этого производного пропорционален количеству ГН. Предел обнаружения ГН 0.5 нг/л. Относительное стандартное отклонение при определении 100 нг/л составляет 2.5%. С удовлетворительной точностью метод может применяться при определении ГН в пробах воды на уровне 10 – 500 нг/л [148].

Для определения остатков ГН в водах паровых котлов предложен метод, основанный на превращении ГН в азин ацетона, экстракции образовавшегося аддукта метиленхлоридом с последующим измерением с помощью газового хроматографа, снабженного азот-фосфорным детектором. Предел обнаружения – 0.1 мкг/л [168].

Описан новый сенсор в виде тонкой полианилиновой пленки обработанной гексафторизопропанолом. Было показано, что этот и другие фторированные спирты реагируют с ГН с выделением сильной плавиковой кислоты – HF, которая протонирует основную форму полиани-

лина и ведет к существенному (более 4 порядков величины) возрастанию проводимости растворов. Это явление применено для обнаружения низких концентраций ГН [189]. Введение присадок для повышения чувствительности полианилиновых и других проводящих полимеров, как концепция, может быть использована для обнаружения и количественного определения других соединений.

Предложен новый кинетико-спектрофотометрический метод, основанный на ингибировании гидразином реакции красителя нейтрального красного с нитритами в кислой среде при температуре 28 °С. ГН может быть определен в концентрационных пределах  $4.7 \cdot 10^{-6} - 3.1 \cdot 10^{-5}$  моль/л с пределом обнаружения  $3 \cdot 10^{-6}$  моль/л [192].

Для непрерывного автоматического измерения массовой концентрации гидразина в воде, для контроля качества воды на предприятиях топливно-энергетического комплекса, химической, нефтехимической, пищевой и других отраслях промышленности, питьевых и сточных вод в Германии разработаны анализаторы гидразина серии DIGOX 5 НУ с диапазоном измерений массовой концентрации гидразина в воде 0...1000 мкг/л. Погрешность + 4 %.

Широкий спектр применения имеет информационно-измерительная система вольтамперометрического анализа «ВОЛАН». Разработчики предлагают ее, среди множества других возможных приложений, и для проведения количественного химического анализа природных, сточных, технологических и питьевых вод на содержание гидразина и несимметричного диметилгидразина (гептила).

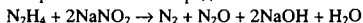
Евгеньевым и др. [41] изучены условия проведения реакций получения производных гидразина с п-диметиламинобензальдегидом и 4-хлор-5,7-динитробензофуразаном, экстракционного концентрирования производных из природных вод и ВЭЖХ определения токсиканта с диодно-матричным детектированием. 5,7-Динитробензофуразановое производное количественно извлекается из воды при pH 3-4 при экстракции изоамиловым спиртом и смесью изоамилового спирта с метиленхлоридом. Разработана методика экстракционно-хроматографического определения ГН в водах с пределом обнаружения 0.05 мкг/л и интервалом определяемых содержаний 0.12-60 мкг/л.

Разработке и внедрению в практику сорбционно- и экстракционно-хроматографических методов определения ароматических аминов и гидразинов в воздухе и природных водах посвящена диссертационная работа [46], в которой рассматривается и современное состояние аналитической химии гидразина.

Гоголашвили Э.Л. и др. было показано, что единственно действовавший до недавнего времени в Российской Федерации отраслевой стандарт Министерства энергетики и электрификации СССР, введенный в 1986 г., и действующие в США, Германии, Китае официальные методики базируются на образовании азинов при взаимодействии ГН с парадиметиламинобензальдегидом и имеют нижний предел определения гидразина 5 мкг/л [30]. Такой же нижний предел определения ГН имеет предлагаемая Миннстерством природных ресурсов РФ в качестве руководящего документа «Методика выполнения измерений массовой концентрации гидразина в пробах питьевых, природных и сточных вод газохроматографическим методом» [67]. В соответствии с этой методикой ГН количественно переводят в бензилазин, экстрагируют гексаном, концентрируют экстракт на ротационном испарителе и определяют на газовом хроматографе, снабженным пламенно-ионизационным детектором.

Различными фирмами предлагаются простые приборы, позволяющие определять ГН спектрофотометрическим методом по его реакции с парадиметиламинобензальдегидом. В рекламных проспектах указывается, что таким способом можно установить содержание ГН в концентрационных пределах 0-100 мкг/л. Однако эксперименты показывают, что нижний порог чувствительности рекламируемого метода не превышает 10 мкг/л.

Нами разработан простой метод определения ГН, базирующийся на реакции ГН с нитритами в кислой среде:



Выделяющаяся закись азота легко обнаруживается газовым хроматографом, снабженным детектором по захвату электронов. При использовании хроматографа марки «Газохром - 1109» оптимальные условия проведения анализа были следующими: температура детектора и колонки соответственно равна 320 и 38 °С, скорость газа-носителя «чистый азот» через полутораметровую колонку, заполненную адсорбентом Порapak Q, 15-20 мл/мин; таков же расход чистого азота и на продувку детектора. При этих условиях происходит четкое разделение пиков кислорода и закиси азота. Время анализа 5-7 мин, предел обнаружения составляет 2-3 мкгN/л.

Предусматривается определение ГН при одновременном присутствии ГА. Вначале проведением реакции с железоммонийными квасцами устанавливают количество ГА в исследуемом образце. Затем экспериментальную склянку продувкой током чистого азота освобож-

дают от образовавшейся в результате окисления ГА закиси азота. Оставшийся в пробе ГН далее определяется по реакции с нитритами по вышеописанному методу.

Количество гидразинного и гидроксиламинного азота в исследуемой пробе определяют по соотношению высот пиков хроматограмм стандартных образцов и природных вод по заранее построенному калибровочному графику.

Необходимо отметить, что ПДК рыбохозяйственных водоемов на ГН - 0.25 мкг/л [65, 66]. Аттестованных методик определения таких концентраций ГН до сих пор не существует. Не разработаны и методы прямого (без предварительного концентрирования) определения содержания гидразина на этом уровне.

## Оглавление

Введение	1
1. Круговорот азота.	4
<u>Природные процессы, ведущие к образованию гидроксиламина и гидразина.</u>	
2. Фотосинтез фитопланктона и деструкция синтезированного органического вещества.	15
3. Фиксация молекулярного азота.	21
3.1. Химическая фиксация молекулярного азота.	22
3.2. Биологическая азотфиксация.	24
4. Нитрификация.	27
4.1. Физико-химическая нитрификация.	27
4.2. Биологическая нитрификация в аэробных условиях.	29
4.2.1. Автотрофная нитрификация.	29
4.2.2. Гетеротрофная нитрификация.	31
4.3. Локализация и скорость аэробной нитрификации.	34
4.4. Анаэробная нитрификация.	44
5. Денитрификация.	46
<u>Гидроксиламин и гидразин в природных водах.</u>	
6. Трансформация и нахождение гидроксиламина в природных водах.	53
6.1. Трансформация гидроксиламина в водных средах.	53
6.2. Гидроксиламин в водных экосистемах.	65
7. Трансформация и нахождение гидразина в природных водах.	101
7.1. Трансформация гидразина в водных средах.	101
7.2. Гидразин в природных экосистемах.	109
8. Заключение.	116
9. Список литературы.	119
Приложение 1. Свойства и методы определения гидроксиламина.	134
Приложение 2. Свойства и методы определения гидразина.	146



Подписано в печать 03.09.2007.  
Печать офсетная. Формат 60 × 84/16.  
Усл. печ. л. 10,0. Тираж 200 экз. Заказ № 1969.

Издательство ОАО «Рыбинский Дом печати»

Отпечатано в ОАО «Рыбинский Дом печати»  
152901, г. Рыбинск, ул. Чкалова, 8.