

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ЗАКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО «КРИСМАС+»

Методы экологических исследований

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ ДЛЯ ВУЗОВ

*Одобрено Федеральным учебно-методическим объединением
в системе высшего образования по укрупненным группам специальностей
и направлений подготовки «Науки о Земле» в качестве учебного пособия для
студентов образовательных организаций высшего образования, обучаю-
щихся по основным образовательным программам высшего образования
по направлению подготовки «05.00.06 Экология и природопользование»,
уровней «бакалавриат» и «магистратура»*

ВОРОНЕЖ – САНКТ-ПЕТЕРБУРГ

Издательство «Научная книга»

2019

УДК 504:550.4 (07)

М 54

Рекомендовано к печати Ученым советом факультета географии, геоэкологии и туризма Воронежского государственного университета (протокол №1 от 23.01.2019); Учебно-методическим советом по направлению «Экология и природопользование» ФУМО «Науки о Земле» (протокол №02/06 от 24.04.2019)

Рецензенты:

***кафедра промышленной экологии, оборудования химических
и нефтехимических производств***

(Воронежский государственный университет инженерных технологий)

доктор геогр. наук, профессор А.Г. Корнилов

***(Белгородский государственный национальный
исследовательский университет)***

М54 Методы экологических исследований : учебное пособие для вузов / Н.В. Каверина, Т.И. Прожорина, Е.Ю. Иванова, М.А. Клевцова, С.А. Куролап, О.В. Клепиков, А.Г. Муравьев, А.Н. Никольская, В.В. Синегубова. – Воронеж: Издательство «Научная книга», 2019. – 355 с.

ISBN 978-5-98222-988-5

Учебное пособие подготовлено на кафедре геоэкологии и мониторинга окружающей среды факультета географии, геоэкологии и туризма Воронежского государственного университета при поддержке и активном участии научно-производственного объединения ЗАО «Крисмас+» (г. Санкт-Петербург). Изложены учебно-методические аспекты и практические методики лабораторных эколого-аналитических исследований, необходимые для подготовки эколога-практика в системе высшего образования. Приведены основы и общие принципы работы в эколого-аналитической лаборатории, комплексы лабораторных работ в области эколого-химических методов исследования объектов окружающей среды, биотестирования и биоиндикации, а также вероятностно-статистические методы оценки риска для здоровья населения, связанного с воздействием химических веществ, загрязняющих окружающую среду.

Предназначено для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлениям 05.03.06 – Экология и природопользование (уровень – бакалавриат) и 05.04.06 – Экология и природопользование (уровень – магистратура).

© Коллектив авторов, 2019

© Издательство «Научная книга», 2019

СОДЕРЖАНИЕ

Предисловие (Куrolan C.A.).....	10
1. Современные методы эколого-аналитических исследований (Каверина Н.В., Муравьев А.Г., Прожорина Т.И., Синегубова В.В.).....	13
1.1. Методика проведения лабораторных работ в эколого-аналитической лаборатории.....	13
1.2. Основные принципы эколого-аналитических исследований	14
1.3. Портативное лабораторное оборудование и приборы контроля окружающей среды.....	23
1.3.1. Портативные лаборатории анализа воды типа НКВ.....	23
1.3.2. Тест-комплекты для анализа воды и почвы	26
1.3.3. Настольная почвенная лаборатория НПЛ	27
Рекомендуемая литература	28
2. Эколого-химические методы исследований окружающей среды (Каверина Н.В., Прожорина Т.И., Муравьев А.Г., Никольская А.Н., Синегубова В.В.).....	30
2.1. Отбор проб объектов окружающей среды.....	30
2.1.1. Отбор проб атмосферного воздуха и промышленных выбросов ...	30
2.1.2. Отбор проб воды.....	36
2.1.3. Отбор проб почвы.....	38
2.2. Измерение концентрации загрязнителя.....	40
2.3. Математическая обработка данных и их проверка.....	41
2.4. Интерпретация и сравнение полученных данных	43
Лабораторная работа № 1. Расчет доверительного интервала метода.....	44
Лабораторная работа № 2. Расчет чувствительности и пределов обнаружения фотометрического метода	45
Лабораторная работа № 3. Расчет навесок для приготовления почвенных вытяжек.....	47
Лабораторная работа № 4. Построение калибровочного графика по методу наименьших квадратов.....	51
2.5. Оценка качества воздуха и промышленных выбросов.....	52
Лабораторная работа № 5. Гравиметрическое определение запыленности воздуха	53

Лабораторная работа № 6. Определение диоксида серы в воздухе турбодиметрическим методом	54
Лабораторная работа № 7. Определение оксидов азота в атмосфере фотоколориметрическим методом	57
Лабораторная работа № 8. Очистка воздуха от диоксида углерода методом абсорбции.....	60
Лабораторная работа № 9. Очистка воздуха от диоксида углерода методом адсорбции.....	63
Лабораторная работа № 10. Экспрессное определение оксида углерода на рабочем месте сварщика	66
2.6. Оценка качества природных и сточных вод.....	68
Лабораторная работа № 11. Титриметрическое определение кальция в природных водах	69
Лабораторная работа № 12. Количественное определение магния в водах расчетным методом.....	71
Лабораторная работа № 13. Определение сульфатов объемным йодометрическим методом в природных водах.....	73
Лабораторная работа № 14. Определение хлоридов объемным аргентометрическим методом в природных водах.....	76
Лабораторная работа № 15. Фотометрическое определение массовой концентрации алюминия в водах (с алюминоном).....	78
Лабораторная работа № 16. Титриметрическое определение карбонатов в природных водах	81
Лабораторная работа № 17. Титриметрическое определение бикарбонатов в природных водах	82
Лабораторная работа № 18. Фотоколориметрическое определение железа общего в природных водах с орто-фенантролином	84
Лабораторная работа № 19. Анализ природных вод экспресс-методами	87
Лабораторная работа № 20. Оценка эффективности очистки сточных вод гидромеханическими методами	96
Лабораторная работа № 21. Очистка питьевой воды методом адсорбции	100
Лабораторная работа № 22. Обесцвечивание сточных вод методами коагуляции и флокуляции.....	104

Лабораторная работа № 23. Электрокоагуляционный метод очистки вод.....	108
Лабораторная работа № 24. Гравиметрическое определение взвешенных веществ в природных водах	112
Лабораторная работа № 25. Фотоколориметрическое определение железа общего в водах с сульфосалициловой кислотой	112
Лабораторная работа № 26. Определение растворенного кислорода в воде (по Винклеру)	114
Лабораторная работа № 27. Вольтамперометрическое определение ионов тяжелых металлов (Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+}) в воде	116
2.7. Оценка качества почвы	120
Лабораторная работа № 28. Гравиметрический метод определения массовой доли золы в почве	121
Лабораторная работа № 29. Определение содержания углерода органических соединений по методу И.В. Тюрина	122
Лабораторная работа № 30. Ацидиметрическое определение карбонатов в почве	124
Лабораторная работа № 31. Определение углекислоты карбонатов (по объему CO_2) газовойolumетрическим методом	127
Лабораторная работа № 32. Определение карбонатов гравиметрическим методом.....	128
Лабораторная работа № 33. Фотометрический метод определения общего азота	129
Лабораторная работа № 34. Определение минеральных соединений азота в почвенных вытяжках колориметрическим методом.....	132
Лабораторная работа № 35. Фотометрический метод определения общего фосфора.....	139
Лабораторная работа № 36. Определение подвижного фосфора в почвах колориметрическим методом (модификация Ф.В. Чирикова)....	142
Лабораторная работа № 37. Определение кислотности и степени засоленности почв	144
Лабораторная работа № 38. Определение обменной кислотности	147
Лабораторная работа № 39. Определение гидролитической кислотности (по методу А.А. Каппена)	149

Лабораторная работа № 40. Качественное обнаружение тяжелых металлов (Pb, Cu, Fe) в почвах	151
Лабораторная работа № 41. Фотометрическое определение общего содержания марганца в почве.....	154
Лабораторная работа № 42. Фотометрическое определение подвижных форм кобальта в почве.....	155
Лабораторная работа № 43. Фотометрическое определение общего содержания ванадия в почве	157
Лабораторная работа № 44. Фотометрическое определение вольфрама в почве	160
Лабораторная работа № 45. Фотометрический метод определения поверхностно-активных веществ в почве.....	162
Лабораторная работа № 46. Гравиметрический метод определения нефтепродуктов в почве	164
Лабораторная работа № 47. Определение содержания подвижных форм никеля и кобальта методом инверсионной вольтамперометрии в почве и донных отложениях	165
Лабораторная работа № 48. Определение содержания сероводорода в почвах	168
Лабораторная работа № 49. Определение буферности почвы.....	169
Лабораторная работа № 50. Определение сульфат-иона в почвенной вытяжке	171
Лабораторная работа № 51. Определение удельной электрической проводимости (солесодержание).....	174
<i>Рекомендуемая литература</i>	177
3. Методы биотестирования и биоиндикации (Иванова Е.Ю., Клевцова М.А.)	181
3.1. Биотестирование тяжелых металлов в различных компонентах биосферы	185
Лабораторная работа № 52. Биотестирование токсичности эссенциальных и неэссенциальных тяжелых металлов с помощью проростков одно- и двудольных растений	190
Лабораторная работа № 53. Влияние солей тяжелых металлов на гликолитическую активность дрожжей	192

Лабораторная работа № 54. Влияние солей тяжелых металлов на активность микроорганизмов почвы	193
Лабораторная работа № 55. Расчетные задачи	195
Лабораторная работа № 56. Биотестирование токсичности биогенных и небιοгенных тяжелых металлов с помощью проростков зерновых культур.....	201
3.2. Биотестирование загрязнения различных сред органическими ксенобиотиками	203
Лабораторная работа № 57. Определение токсичности хлорорганических пестицидов по разрушению хлорофилла методом высечек листьев.....	209
Лабораторная работа № 58. Качественная реакция на определения наличия ДДТ в пищевых продуктах	211
Лабораторная работа № 59. Токсикология фосфорорганических пестицидов	212
3.3. Биотестирование токсичности ксенобиотиков в различных средах....	214
Лабораторная работа № 60. Определение токсичности проб поверхностных пресных вод по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (<i>Chlorella vulgaris</i> Beijer).....	217
Лабораторная работа № 61. Определение токсичности воды и водных растворов химических веществ с помощью элодеи канадской (<i>Elodea canadensis</i> Rich.)	221
Лабораторная работа № 62. Биотестирование токсичности воды с использованием Ряска малой (<i>Lemna minor</i> L.).....	223
Лабораторная работа № 63. Определение токсичности воды с использованием Дафния magna (<i>Daphnia magna</i> Straus)	225
Лабораторная работа № 64. Определение токсичности воды и водных растворов с помощью цериодафний (<i>Ceriodaphnia affinis</i> Lilljeborg)	230
Лабораторная работа № 65. Биотестирование токсичности воды и водных вытяжек с использованием рыб (на примере гуппи (<i>Poecilia reticulata</i> Peters)).....	232
Лабораторная работа № 66. Оценка ферментативной активности почв	236
3.4. Микробиологические методы контроля качества среды	244
Лабораторная работа № 67. Определение общего микробного числа в воде и почве.....	245
Лабораторная работа № 68. Определение коли-индекса	247

Лабораторная работа № 69. Анализ аккумуляции мутагенных и канцерогенных веществ с помощью теста Эймса сальмонеллы микросомы.....	250
3.5. Биоиндикация на различных уровнях организации живой материи	261
Лабораторная работа № 70. Определение степени повреждения растений, вызываемого суховеями.....	262
Лабораторная работа № 71. Определение устойчивости растений к низким температурам и степени их подготовленности к зимнему периоду на основе гистохимических реакций	265
Лабораторная работа № 72. Влияние засоления почвы на рост и развитие растений.....	269
Лабораторная работа № 73. Определение устойчивости растений к выхлопным газам автомобильного транспорта методом фумигации	272
Лабораторная работа № 74. Оценка фитонцидной активности растений в пробе с простейшими	276
Лабораторная работа № 75. Оценка жизненного состояния древесных растений по комплексу морфологических изменений	279
Лабораторная работа № 76. Диагностика нарушений показателей водного режима древесных растений под влиянием внешних факторов среды гравиметрическими методами	282
Лабораторная работа № 77. Оценка загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами по накоплению их в растениях с помощью гистохимических реакций.....	287
Лабораторная работа № 78. Влияние солей тяжелых металлов на коагуляцию растительных и животных белков	289
Лабораторная работа № 79. Определение нитратов в различных овощных культурах в зависимости от вида, сорта, органа, ткани	290
Лабораторная работа № 80. Качественное распознавание минеральных удобрений как возможных загрязнителей сельхозпродукции	295
<i>Рекомендуемая литература</i>	303
4. Статистические методы оценки экологического риска для здоровья населения (Куrolan С.А., Клеников О.В.).....	307
4.1. Когортный метод оценки риска.....	307
Лабораторная работа № 81. Оценка относительного экологического риска для здоровья населения когортным методом	309

4.2. Методология и примеры оценки риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду	310
4.2.1. Теоретические основы методологии оценки риска	310
4.2.2. Шкала оценки рисков	318
4.3. Примеры расчета рисков вследствие загрязнения атмосферного воздуха и питьевой воды (лабораторные работы)	320
Лабораторная работа № 82. Оценка канцерогенного риска от присутствия бенз(а)пирена в атмосферном воздухе.....	320
Лабораторная работа № 83. Оценка неканцерогенного риска, связанного с загрязнением атмосферного воздуха промышленного города	322
Лабораторная работа № 84. Оценка канцерогенного риска, обусловленного качеством питьевой воды	324
Лабораторная работа № 85. Оценка неканцерогенного риска, обусловленного качеством питьевой воды	326
Лабораторная работа № 86. Составление типового проекта оценки риска для здоровья населения	327
<i>Рекомендуемая литература</i>	350
Приложение 1	351
Приложение 2	352
Приложение 3	353
<i>Сведения об авторах</i>	354

ПРЕДИСЛОВИЕ

Современное эколого-географическое образование во многом носит практико-ориентированный характер, нацеленный на подготовку специалиста, владеющего современными методами инструментально-лабораторных анализов объектов окружающей среды, оценки экологического состояния среды обитания и рисков для здоровья населения.

Практико-ориентированный подход нацелен на развитие технологического подхода к решению экологических задач, а также развитие самостоятельных навыков обучающегося по овладению современными методами, технологиями и приборной базой для решения профессиональных задач. Для этого в учебном процессе создаются условия, максимально приближенные к практической работе в научно-исследовательских, проектно-изыскательских и производственных лабораториях. Такой принцип обучения развивает познавательную активность обучающегося, обеспечивая преемственность и межпредметные связи между экологией, химией, биологией, географией и специализированными дисциплинами университетского экологического образования.

Подобный подход разработан и уже многие годы успешно применяется в системе эколого-географического образования на факультете географии, геоэкологии и туризма Воронежского государственного университета (ВГУ), который отражает принцип «сквозной» эколого-аналитической подготовки в рамках различных базовых и вариативных дисциплин государственных образовательных стандартов направления «Экология и природопользование» (05.03.06 – уровень бакалавриата и 05.04.06 – уровень магистратуры), где целесообразно освоение лабораторно-инструментальных методов исследования в ходе аудиторного преподавания, а также при проведении полевых учебных и производственных практик.

Не претендуя на полноту охвата всех методов эколого-аналитических исследований объектов окружающей среды и методов оценки экологических рисков, авторы настоящего учебного пособия продемонстрировали наиболее типичные лабораторные работы, которые апробированы в учебном процессе на базе аттестованной учебной эколого-аналитической лаборатории факультета географии, геоэкологии и туризма ВГУ (свидетельство об аттестации №217.001/11 от 10.05.2016). В учебном пособии описаны подходы к анализу воздушной, водной и почвенной сред с помощью оригинальных экогеохимических методов, методов биоиндикации и биотестирования объектов окружающей среды. Отдельные разделы посвящены описанию функциональных возможно-

стей лабораторного оборудования и приборной базы исследований, в том числе с помощью стационарных лабораторных и экспресс-методов экологической диагностики среды обитания. Описаны основные принципы и алгоритмы математико-статистической обработки получаемых данных, а также принципы их содержательной интерпретации. Отдельный раздел посвящен изложению современных методов оценки риска для здоровья населения, связанного с химическим загрязнением среды обитания, и составлению типового Проекта оценки риска для здоровья населения, применяемого в практической работе эколога.

Лабораторные исследования должны быть сопряжены с предварительной предметной подготовкой, поэтому ряд разделов сопровождается кратким теоретико-методическим пояснением проблемы для понимания сущности проводимых лабораторных работ. Это способствует повышению системности знаний и доступности иллюстрируемых практических методик и алгоритмов обработки данных. Подобный компонент содержательного анализа результатов часто отсутствует в аналогичной учебно-методической литературе, что не позволяет профессионально осмыслить полученные данные в ходе аналитических исследований и перейти от формальной к содержательной интерпретации полученных результатов.

Учебное пособие охватывает лабораторные практикумы по циклам следующих дисциплин эколого-географического профиля:

- уровень – бакалавриат: «Общая экология», «Геохимия окружающей среды», «Экологический мониторинг», «Биоиндикация», «Аналитические методы контроля окружающей среды», «Токсикология и биотестирование», «Экология человека»;
- уровень – магистратура: «Эколого-геохимический мониторинг», «Социально-гигиенический мониторинг».

Предложенные лабораторные работы будут полезны также в научно-исследовательской деятельности сотрудников, аспирантов и студентов естественно-географических специальностей в области экогеохимии, биоиндикации, биотестирования и мониторинга окружающей среды, экологии человека и оценки риска для здоровья населения.

Ряд лабораторных работ в области эколого-химических исследований состояния окружающей среды подготовлен совместно в рамках творческого сотрудничества между факультетом географии, геоэкологии и туризма ВГУ и его многолетним партнером – научно-производственным объединением Закрытым акционерным обществом «Крисмас+» (г. Санкт-Петербург). Компания ЗАО «Крисмас+» является ведущим предприятием отечественной индустрии по производству и оснащению учебных заведений и профессиональных служб современ-

ным лабораторным оборудованием и приборами для изучения качества окружающей среды химическими экспресс-методами (индикаторными трубками, полевыми лабораториями, тест-комплектами, экспресс-лабораториями и др.). Соответствующее портативное оборудование показало свою высокую эффективность в использовании и решении учебных и профессиональных задач и широко применяется в различных образовательных учреждениях по всей Российской Федерации. Освоение студентами практической приборной базы и технологий аналитических исследований позволяет выпускникам вузов успешно работать в качестве экологов-экспертов, экологов-аналитиков, экологов-химиков, профессионально решая задачи в области экогеохимии, биоиндикации, мониторинга окружающей среды и здоровья населения, что делает их востребованными на современном рынке высоких технологий.

В структурном отношении учебное пособие включает четыре основных раздела:

1. Современные методы эколого-аналитических исследований (*Каверина Н.В., Муравьев А.Г., Прожорина Т.И., Синегубова В.В.*).

2. Эколого-химические (экогеохимические) методы анализа и контроля состояния воздушной, водной и почвенной сред (*Каверина Н.В., Прожорина Т.И., Муравьев А.Г., Никольская А.Н., Синегубова В.В.*).

3. Методы биотестирования и биоиндикации (*Иванова Е.Ю., Клевцова М.А.*).

4. Статистические методы оценки экологического риска для здоровья населения (*Куrolan С.А., Клетиков О.В.*).

Всего приведено описание 86 лабораторных работ, которые будут полезны при проведении практических и лабораторных занятий по дисциплинам экологической ориентации, а также в полевых условиях при контроле экологических характеристик объектов окружающей среды. Большинство предлагаемых лабораторных работ базируется на апробированных методах, заимствованных из государственных стандартов, ведомственных нормативно-правовых документов, а также унифицированных методик, ссылки на которые приведены в списках рекомендуемой литературы по соответствующим разделам учебного пособия. Отдельные работы и описанные методические подходы имеют оригинальный авторский характер.

Учебное пособие предназначено для студентов высших учебных заведений, обучающихся по направлению «Экология и природопользование» (05.03.06 – уровень бакалавриата и 05.04.06 – уровень магистратуры).

1. СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ЭКОЛОГО-АНАЛИТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Комбинаторность и разнообразие связей в экосистемах разных уровней организации и среды обитания обуславливают многообразие методов экологических исследований.

Для современных экологических исследований характерна ориентация на количественную и качественную оценки изучаемых объектов и процессов (учет загрязненности среды, силы действия ее факторов, численности организмов в пространстве и во времени, встречаемость, возрастная и половая структуры популяций, плодовитости, продуктивности, заболеваемости, прогноз на будущее и т.п.). По изменениям показателей исследуемого объекта можно судить о его состоянии и определить стабильность или тенденции к изменениям, скорость, размеры и направление изменений.

1.1. Методика проведения лабораторных работ в эколого-аналитической лаборатории

Лабораторная работа относится к видам учебных занятий, которые проводятся в специально отведенных, оборудованных помещениях (лабораториях), продолжительностью не менее двух часов.

Обязательным условием для ведения занятия в помещении лаборатории является проведение инструктажа по технике безопасности на рабочем месте. В зависимости от наполнения занятия необходимо повторять наиболее актуальные вопросы безопасности. Лаборатория должна быть обеспечена средствами индивидуальной защиты, предотвращающими попадание реактивов на одежду и обсеменение микроорганизмами. В помещении должны быть организованы персональные рабочие места.

Непосредственно перед выполнением лабораторных работ студентам необходимо напомнить теорию и провести связи между изученными ранее предметами (экологией, химией, биологией и географией).

В эколого-аналитической лаборатории целесообразно проводить репродуктивные лабораторные работы. При этом студенты обеспечиваются подробными инструкциями, объяснениями (теории, главных характеристик объекта и предмета исследований), оборудованием (аппаратурой), описанием материалов, порядком выполнения анализов, готовыми шаблонами таблиц, макетами выводов и рекомендуемой литературой [Руководство..., 2014].

Лабораторные работы могут быть организованы для всех обучаемых студентов, для отдельных групп и по индивидуальному плану. В

последнем случае студент самостоятельно исследует и анализирует полученную информацию.

Работа в лаборатории должна быть организована таким образом, чтобы под руководством преподавателя студенты могли выполнить несколько практических работ (заданий) в соответствии с изучаемым содержанием учебного материала.

К основным задачам выполнения студентами лабораторных работ относятся:

- обобщение, систематизация и закрепление полученных теоретических знаний;
- формирование навыков владения методами отбора проб и проведения химико-аналитического анализа вредных выбросов в окружающую среду, геохимических исследований, реализация единства интеллектуальной и практической деятельности;
- развитие интеллектуальных умений, владение навыками сбора, обработки, систематизации, анализа информации;
- анализ и синтез производственной, полевой и лабораторной экологической информации;
- выработка при решении поставленных задач таких профессионально значимых качеств, как самостоятельность, ответственность, точность, творческая инициатива [Мозгарев Л.В. и др., 2015; Савинков Ю.А., 2014].

1.2. Основные принципы эколого-аналитических исследований

По своему характеру исследования, проводимые в эколого-аналитической лаборатории, могут быть подразделены на количественные, при которых определяется степень обремененности исследуемого объекта, и качественные определения, при которых обнаружение компонентов производится лишь приблизительно.

Для целей количественного химического анализа объектов окружающей среды используются различные методики, основу которых составляют методы аналитической химии [Экспресс-анализ..., 2010; Эколого-аналитические методы..., 2010].

В их число входят:

1. Гравиметрия
2. Титрометрия
3. Хроматография
4. Фотометрия
5. Вольтамперометрия
6. Потенциометрия

Гравиметрический анализ относится к наиболее простым и распространенным методам контроля окружающей среды и основан на точном измерении массы определяемого вещества в виде соединения или простого вещества определенного состава. Основным инструментом являются весы, различного класса точности, внесенных в государственный реестр средств измерений, предназначенные для взвешивания различных веществ при проведении лабораторных анализов.



Рис. 1.1. Аналитические весы серии CY модель CY-224C.



Рис. 1.2. Аналитические лабораторные весы ВЛР-200

Выбор и применение методов количественного определения загрязняющих веществ ориентирован на достижение их максимальной чувствительности, точности, специфичности и воспроизводимости, а также на упрощение техники измерения. Согласно сложившейся в аналитической химии системы размерностей в учебной экоаналитической лаборатории существует возможность проведения макроанализа, микроанализа и ультрамикроанализа.

Макроанализ (макроопределение, дециграммовый метод) – аналитические операции с относительно большим количеством анализируемых веществ (0,1 г и более). Пробы взвешивают на обычных технических или аналитических весах (рис. 1.1 – 1.3).



Рис. 1.3. Лабораторные электронные весы серии ACOM-JW-1 (2-й класс точности)

Микроанализ (микроопределение, миллиграммовый метод) – выполнение аналитических операций со средними навесками проб (10^{-3} – 10^{-2} г) и со средним объемом анализируемых растворов (около 1 мл).

Для взвешивания проб пользуются аналитическими весами, более точной микропосудой.

Ультрамикроанализ (микрограммовый метод) – совокупность приемов и методов анализа, очень малых образцов вещества (10^{-6} – 10^{-3} г).

Методы исследования окружающей среды позволяют комбинировать различное оборудование. При отборе проб воздуха в качестве аспираторов возможно использование устройств, обеспечивающих как непрерывное просасывание воздуха (рис. 1.4), так и работающих периодически – ручного действия (рис. 1.5).

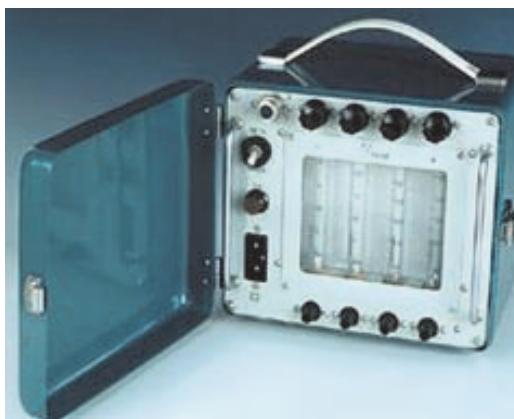


Рис. 1.4. Аспиратор типа М 822 непрерывного действия



Рис. 1.5. Аспиратор типа «Насос-пробоотборник ручной НП-3М» для анализа совместно с индикаторными трубками

Исследование при этом проводится с целью выявления механических примесей и определения состава промышленных выбросов и количественного экспресс-контроля загрязненности воздуха с помощью индикаторных трубок. Научно-производственное объединение «Крисмас+» (г. С.-Петербург), является крупнейшим отечественным производителем индикаторных трубок, широкий спектр которых позволяет существенно разнообразить перечень определяемых компонентов [Индикаторные трубки..., 2005].

К распространенным методам исследования окружающей среды следует отнести титриметрический анализ, т.е. метод определения количества вещества путем точного измерения объема растворов веществ, вступающих между собой в реакцию. Химическая титриметрия имеет предел обнаружения 10^{-6} моль/л, точность 1,0 %. Определяемые компоненты – макро- и полумикрокомпоненты. Этот метод, так же как и гравиметрический метод, точен и надежен, но он длительный и низкочувствительный. Его существенным преимуществом является доступность и низкая стоимость исследований.

Из доступных **хроматографических методов** анализа в учебном процессе используется метод осадочной тонкослойной хроматографии.

Он основан на способности разделяемых веществ образовывать малорастворимые соединения с различными произведениями растворимости.

В качестве неподвижной фазы выступает инертный носитель, покрытый слоем осадителя; разделяемые вещества, находящиеся в подвижной фазе, вступают во взаимодействие с осадителем и образуют малорастворимые вещества – осадки. При дальнейшем пропускании растворителя происходят поочерёдно: растворение этих осадков, перенос вещества по слою неподвижной фазы, снова осаждение и т.д. Хроматограммой в данном случае будет являться распределение осадков по слою носителя.

К достоинствам метода относятся: простота, экономичность, доступность оборудования, экспрессность (продолжительность разделения 10 – 100 мин), высокие производительность и эффективность разделения, наглядность результатов разделения, простота обнаружения хроматографических зон.

Наиболее широко в экоаналитических лабораториях применяются **фотометрические методы** исследования. Они базируются на способности жидких сред поглощать, рассеивать или отражать электромагнитное излучение в зависимости от интенсивности окраски раствора и концентрации вещества. В настоящее время разработаны фотометрические методы определения практически всех элементов, за исключением благородных газов. Определение элементов можно проводить в очень широком интервале концентрации компонентов пробы: от макроколичеств – 50–1 % (в основном дифференциальным методом) до микроколичеств – порядка 10^{-6} – 10^{-8} %. Фотометрические методы отличаются универсальностью, высокой чувствительностью и точностью (погрешности определения составляют около 5 %).

В условиях учебной экоаналитической лаборатории целесообразно применение фотоколориметров серии КФК-3 (рис. 1.6, а и 1.6, б.), а также (либо в дополнение к ним, особенно для применения в полевых условиях) фотоколориметра «Экотест-2020» (рис. 1.6, в.) из набора-укладки для фотоколориметрирования производства НПО ЗАО «Крисмас+» Эко-тест-2020-К (рис. 1.6, г.).

К современным высокоточным методам исследования относится метод **вольтамперометрического анализа**. Его сущность заключается в регистрации и расшифровке зависимости тока, протекающего в цепи электрохимической ячейки, от приложенного к её электродам поляризующего напряжения.

Вольтамперограмма – это зависимость тока от приложенного напряжения (рис. 1.7). Она позволяет одновременно получить качественную и количественную информацию об элементах, восстанавливающихся или окисляющихся на рабочем электроде.



Рис. 1.6, а. Спектрофотометр КФК-3-01



Рис. 1.6, б. Фотоколориметр КФК-3КМ



Рис. 1.6, в. Фотоколориметр «Экотест-2020»



Рис. 1.6, г. Набор-укладка для фотоколориметрирования «Экотест-2020-К»

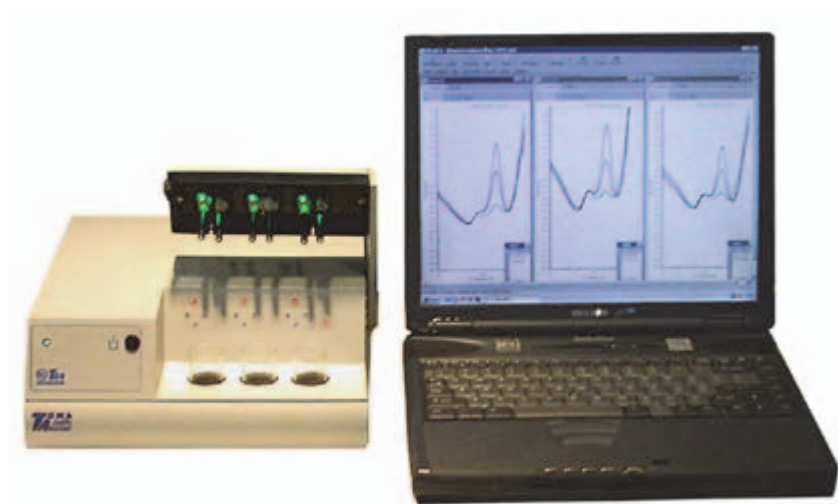


Рис. 1.7. Вольтамперометрический анализатор ТА-4

Объектами анализа могут быть: вода, почва, воздух, биологически активные добавки, лекарственные препараты, пищевые продукты, продовольственное сырье, парфюмерия, косметика, аэрозоли, торф, ил, твердые отходы и др.

Анализаторы типа ТА-4 выпускались ООО НПП «ТОМЬАНАЛИТ» с 2003 года и за это время успели себя зарекомендовать как надежные, удобные приборы для определения микроэлементов. В настоящее время выпускается вольтамперометрический анализатор ТА-Lab (рис. 1.8).



Рис. 1.8. Вольтамперометрический анализатор ТА-Lab

На анализаторе можно определять массовые концентрации следующих элементов и веществ: Zn, Cd, Pb, Cu, Sn, Sb, Bi, Mn, As, Hg, Se, Co, Fe, Ni, Cr, In, Pt, Os, Ir, Rh, Pd, Ru, Au, Ag, J, Cl, Br, Mo, Li, K, Na, Ba, Be, U, V, W, Tl, Ca.

К преимуществам вольтамперометрических анализаторов следует отнести высокую чувствительность ($5 \cdot 10^{-11}$), широкий диапазон определяемых концентраций (0,00005 – 10 мг/дм³), воспроизводимость аналитических сигналов (1 – 5 %), одновременный анализ трех подготовленных проб, в течение 5 – 30 мин.

Использование специального программного обеспечения VALabTx, разработанного ООО НПП «ТОМЬАНАЛИТ», позволяет повысить точность и достоверность измерений, ускорить процедуру анализа и исключить субъективизм при оценке результатов анализа, что особенно важно при проведении практических научных исследований для дипломных и диссертационных работ.

Значительно сокращают время и упрощают работу в лаборатории компактные, двухкамерные программируемые печи серии ПДП. Они предназначены для выпаривания и озоления проб с целью их подготовки для дальнейшего анализа. Процессы выпаривания и озоления могут проводиться одновременно при контроле температуры и времени, что повышает удобство и эффективность процесса пробоподготовки (рис. 1.9).



Рис. 1.9. Программируемая двухкамерная печь ПДП-Аналитика

Пульт управления хранит в памяти по 9 программ термообработки для двух камер. В каждой программе можно сформировать 9 этапов, с характерными температурным и временным интервалами.

Потенциометрический метод анализа относится к электрохимическим методам и основан на измерении электродвижущей силы гальванического элемента с индикаторным электродом, потенциал которого зависит от концентраций (активностей) ионов в исследуемом растворе.

Прямая потенциметрия обладает важными достоинствами. К преимуществам метода можно отнести его портативность. В процессе измерений состав анализируемого раствора не меняется. При этом, как правило, не требуется предварительного отделения определяемого вещества.

Аналитические методы контроля объектов окружающей среды дополняют методы биотестирования, позволяя проводить экологический мониторинг наиболее полно и достоверно, показывая реальное состояние окружающей среды как в данный момент времени, так и в динамике.

Методы биотестирования не требуют идентификации конкретных химических соединений, достаточно просты в исполнении и дешевы, что позволяет использовать физико-химические методы анализа более рационально.

Простые в исполнении и неспецифические биотесты должны использоваться для непрерывного мониторинга качества среды и сигнализации о появлении в среде токсичных загрязнений, а аналитические методы могут привлекаться для определения химической природы загрязнения только после получения положительного результата при биотестировании среды на интегральную токсичность.

В биологических методах анализа устанавливаются связи характера и интенсивности ответного сигнала с количеством определяемого

компонента. В качестве индикаторов применяются микроорганизмы (бактерии, дрожжи, плесневые грибы), водоросли и высшие растения, водные беспозвоночные и позвоночные животные.

В лаборатории воссоздать естественные условия или смоделировать экологическую ситуацию возможно лишь с использованием сред строго определенного состава. Большое значение при работе с тест-объектами имеет качество подготовки питательных сред (рис. 1.10) и чистота лабораторного оборудования (рис. 1.11).



Рис. 1.10. Портативный прибор TC TDS HANNA для определения общего содержания растворенных солей



Рис. 1.11. Стерилизатор паровой серии DGM Модель DGM – 200

Качество среды контролируется с помощью pH-метра (рис. 1.12) и портативного оксиметра (рис. 1.13).



Рис. 1.12. Портативный компактный pH-метр «pHep+» HANNA



Рис. 1.13. Портативный оксиметр HI 9143

Как правило, биологические методы анализа отличаются высокой чувствительностью и избирательностью определения биологически ак-

тивных веществ. Исследование живых организмов весьма многогранно и количество наблюдаемых показателей весьма велико. Для наблюдения, а также для качественной и количественной оценки результатов биологического анализа используются различные микроскопы (рис. 1.14, 1.15).



Рис. 1.14. Микроскоп
МИКМЕД-1



Рис. 1.15. Микроскоп
Микромед С-12

Применение цифровой камеры-окуляра для микроскопа позволяет получать яркое и четкое изображение даже на периферийных участках (рис. 1.16), а также выводить изображение на экран компьютера или сохранять архивные материалы в виде фотографий.



Рис. 1.16. Цифровая камера-окуляр
для микроскопа DCM130

Таким образом, использование всех возможностей учебной эко-аналитической лаборатории позволяет студентам в полной мере овладеть основными терминами, понятиями, определениями качественного, количественного химического, инструментального и биологического анализа. Из курса в курс студенты обеспечиваются необходимой информацией для овладения знаниями в области природопользования и геоэкологии с учетом дальнейшего обучения и профессиональной деятельности по специальности.

1.3. Портативное лабораторное оборудование и приборы контроля окружающей среды

Портативные методы применимы при экоаналитических исследованиях для определения концентрации химических компонентов не только в водоемах, но и в почве и воздушной среде. Это удобно при проведении комплексных химико-аналитических работ, в качестве предмета исследования охватывающих не только воды, в т.ч. сточные и природные – минеральные, питьевые, грунтовые, морские, но также почвенные вытяжки, атмосферный воздух, воздух рабочей зоны, промышленные газовые выбросы.

Свойство портативности может рассматриваться по отношению к любому средству контроля химических параметров. В отличие от малогабаритных переносных электропотребляющих приборов, тест-систем и индикаторных трубок, для методов «мокрой химии» и комплектов на их основе свойство портативности создает ряд новых полезных, а в ряде случаев – незаменимых качеств. Именно такими свойствами обладают комплектные лаборатории, мини-экспресс-лаборатории и тест-комплекты производства ЗАО «Крисмас+».

1.3.1. Портативные лаборатории анализа воды типа НКВ

Портативные лаборатории анализа воды типа НКВ различных моделей (далее также лаборатории) предназначены для контроля питьевой и природной воды по важнейшим показателям качества. Лаборатории позволяют выполнять анализ воды, общая минерализация которой, как правило, не превышает 3-5 г/л (питьевой и минеральной воды, воды водоемов хозяйственно-бытового и культурно-бытового назначения). Лаборатории НКВ также могут использоваться при анализе очищенных сточных вод, морской и грунтовой воды и почвенных вытяжек по отдельным показателям.

Портативные лаборатории анализа воды типа НКВ являются оригинальными изделиями, разработанными и производимыми ЗАО «Крисмас+». Данные изделия производятся под зарегистрированной товарной маркой «КРИСМАС» (свидетельство № 404860, № 570418) и защищены патентом РФ № 96342.

Лаборатории НКВ, в зависимости от модели и модификации, имеют широкое применение во многих областях, требующих получение данных о составе воды. К таким областям можно отнести анализы при экологическом и производственном контроле, водоподготовке, водоочистке и кондиционировании воды, экологических работах, водоснабжении и водоотведении, гидрогеологических изысканиях, аквариуми-

стике, эксплуатации резервуаров и бассейнов с водой, производстве бутилированной воды, в образовательных практиках и профессиональной подготовке и др.

Лаборатории НКВ возможно использовать в различных условиях:

- в полевых (внелабораторных) условиях – непосредственно у водного источника или в базовом лагере, на рабочем месте в производственных условиях;

- в лабораторных условиях – в дополнение к материальному оснащению лаборатории или при его отсутствии [Исследование..., 2017, Руководство по анализу воды, 2018].

В зависимости от модели и модификации изделий, состав лабораторий может дополняться тест-комплектами для контроля питьевой, природной и сточной воды, а также приборами контроля воды, также поставляемых ЗАО «Крисмас+».

Портативные лаборатории анализа воды НКВ представлены тремя моделями – НКВ-1, НКВ-12 и НКВ-Р

Полевые лаборатории анализа воды модели НКВ-1 представляют собой наиболее компактную модель лаборатории химического анализа воды, позволяющую определить 14 и более показателей. Данные полевые лаборатории максимально портативны, легко переносимы и перевозимы, пригодны для полевых и стационарных условий, относительно недороги. Применяются при экологических и гидрологических работах, водоподготовке (водоочистке и кондиционировании), производственном контроле, аквариумистике, эксплуатации резервуаров и бассейнов с водой, в образовательных практиках и профессиональной подготовке и т.п. Их применение наиболее рационально в сфере образования, общественного экологического контроля, анализа с ограниченными ресурсами.

Модель НКВ-1 предусматривает модификацию с дополнением тест-комплектами для расширения перечня показателей, а также набором-укладкой для фотоколориметрирования проб. Общий вид полевой лаборатории модели НКВ-1 приведён на рис. 1.17.

Настольные лаборатории анализа воды модели НКВ-12 представляют собой профессиональные лаборатории анализа питьевой, природной и технологических вод для широкого спектра аналитических задач. Лаборатории НКВ-12 имеют широкое применение во многих областях, нуждающихся в получении данных о составе воды. К таким областям можно отнести анализы при экологическом и гидрологическом мониторинге; эксплуатации систем водоподготовки, водоочистки, водоснабжения, водоотведения и кондиционирования воды; производственном контроле сточных вод; гидрогеологических изысканиях, оценке агрессивности грунтовых вод и разведке водоисточников; аквариумистике, эксплуатации резервуаров и бассейнов с водой; производстве бу-

тилированной воды, а также в образовательных практиках и профессиональной подготовке и т.п. НКВ-12 также позволяют выполнять анализ почвенных вытяжек, очищенных сточных вод и морской воды по отдельным показателям.



Рис. 1.17. Портативные лаборатории анализа воды типа НКВ-1



Рис. 1.18. Ранцевая полевая лаборатория модели НКВ-Р с открытым столиком

Благодаря универсальной укладке типа «кейс-бокс» удобна при использовании в настольном варианте в условиях мало оснащённых лабораторий, а также в условиях экспедиционного лагеря.

Ранцевые полевые лаборатории исследования водоёмов модели НКВ-Р представляют собой универсальные полевые лаборатории. Они являются уникальными изделиями, которые с полным основанием можно считать многофункциональными исследовательскими комплексами [Исследование..., 2017]. НКВ-Р в разных модификациях позволяют выполнять разнообразные исследования при комплексной экологической, биолого-экологической и гидрологической оценке состояния водоёмов посредством определения показателей гидрохимических, почвенно-химических, гидробиологических, визуальной оценки и др. Удобны при профессиональном и учебном применении в полевых исследованиях и в базовом лагере.

Портативная лаборатория «ПЧЁЛКА-Н» предназначена для определения уровня содержания нефтепродуктов в растворенной и эмульгированной формах в природных водах любой степени минерализации, включая морские, а также в сточных водах (рис. 1.19) [Руководство по анализу воды, 2018].



Рис. 1.19. Портативная лаборатория «Пчёлка-Н»

Портативная лаборатория «Пчёлка-Н» предназначена для определения уровня содержания нефтепродуктов в растворенной и эмульгированной формах в природных водах любой степени минерализации, включая морские, а также в сточных водах (в промышленных стоках и стоках неизвестного происхождения).

Метод определения нефтепродуктов основан на предварительном концентрировании их путем экстракции из водной среды неполярным растворителем в кислой среде с последующим анализом экстрактов. Анализ вод проводится методами бумажной хроматографии, а также тонкослойной (полуколичественно и качественно) [Химический анализ..., 2015; Руководство по анализу воды, 2018].

1.3.2. Тест-комплекты для анализа воды и почвы

Тест-комплект – функционально целостная укладка всего необходимого для выполнения количественного или полуколичественного химического экспресс-анализа (воды, почвенной вытяжки) на содержание одного или нескольких однородных веществ в полевых, лабораторных или производственных условиях. Представляет собой компактную подборку готовых расходуемых реагентов и материалов, оборудования, принадлежностей и документации (рис. 1.20). Отличается портативностью, удобством и простотой в применении.

Тест-комплекты позволяют выполнять химический анализ, как правило, с использованием унифицированных типовых или модифицированных методик на основе стандартных методов, а также тест-методов. Тест-комплектами могут укомплектовываться различные укладки.



Рис. 1.20. Внешний вид некоторых тест-комплектов

Тест-комплекты используются при экоаналитическом, санитарном и водно-химическом контроле, водоподготовке, гидрологических, изыскательских и др. работах. Их применение позволяет в максимальной степени снизить расходы на проведение оперативного санитарно-химического, экологического и технологического контроля, осуществлять его без привлечения высоко-квалифицированных сотрудников и дорогостоящего оборудования непосредственно как в лаборатории, так и вне её (на месте отбора проб). Применение тест-комплектов позволяет оптимизировать режимы эксплуатируемого инженерного оборудования, увеличить сроки его безремонтной работы, повысить качество производимой продукции и оказываемых услуг [Химический анализ..., 2015; Руководство по анализу воды, 2018].

1.3.3. Настольная почвенная лаборатория НПЛ

Настольная почвенная лаборатория НПЛ (имеет несколько модификаций) является наиболее функциональным изделием, пригодным для профессионального и продвинутого учебного применения для исследования почвы в полевых и лабораторных условиях [Муравьев А.Г. и др., 2015; Химический анализ..., 2015].

Лаборатория НПЛ (рис. 1.21) предназначена для оценки основных химических, а также морфологических и физических показателей состояния почв и почво-грунтов. В почвенной портативной лаборатории исследования химических показателей осуществляются визуально-колориметрическим, титриметрическим, комплексонометрическим, кондуктометрическим и потенциометрическим стандартизованными методами.



Рис. 1.21. Настольная почвенная лаборатория НПЛ

Более подробную информацию о производителе и каталоги с описаниями продукции можно найти на интернет-сайтах научно-производственного объединения ЗАО «Крисмас+», основном корпоративном <http://christmas-plus.ru/> и сайте интернет-магазина Группы компаний «Крисмас» <https://shop.christmas-plus.ru>.

Научно-производственное объединение ЗАО «Крисмас+»: 191119, г. Санкт-Петербург, ул. Константина Заслонова, д. 6. Факс: (812) 325-3479 (автомат).

Административно-коммерческая служба: тел. (812) 575-5081, 575-5791, 575-5543, 575-5407.

Учебный центр: тел. (812) 575-5081, 575-5791, 575-5543, 575-5407.

Издательство «Крисмас+»: тел. (812) 575-5081, 575-5791, 575-5543, 575-5407.

СПб ОУ содействия образовательному процессу «Учебное оборудование»: тел. (812) 575-5081, 575-5791, 575-5543, 575-5407.

Производственно-лабораторный комплекс: 191180, г. Санкт-Петербург, наб. реки Фонтанки, д. 102, тел. (812) 575-8814, 764-6142. Факс: 713-20-38 (автомат).

Рекомендуемая литература

Индикаторные трубки и газоопределители / Н.М. Петрова, А.Г. Муравьев, Б.В. Смолев и др. / под ред. А.Г. Муравьева. – СПб. : Кри-
смас+, 2005. – 176 с.

Исследование экологического состояния водных объектов : руководство по применению ранцевой полевой лаборатории НКВ-Р / под ред. А.Г. Муравьёва. – Изд. 2-е, перераб. – СПб. : Крисмас+, 2017. – 256 с.

Мозгарев Л.В. Профессиональный стандарт «Педагог (педагогическая деятельность в дошкольном, начальном общем, основном общем, среднем общем образовании) (воспитатель, учитель)» как основа формирования содержания повышения квалификации работников образования. Общепедагогическая функция. Обучение. Трудовое действие «Разработка и реализация программ учебных дисциплин в рамках основной общеобразовательной программы». Часть 1. Разработка / Л.В. Мозгарев, О.Н. Мосолов, Ю.А. Савинков и др. – Воронеж : ВИРО, 2015.

Муравьёв А.Г. Оценка экологического состояния почвы : практическое руководство / А.Г. Муравьёв, Б.Б. Каррыев, А.Р. Ляндзберг; под ред. к.х.н. А.Г. Муравьёва. – Изд. 4-е, перераб. и дополн. – СПб. : Крисмас+, 2015. – 208 с., ил.

Руководство к практическим занятиям для лаборатории «Экология и охрана окружающей среды»: учебное пособие для вузов / под ред. А.Г. Муравьёва – Изд. 3-е, перераб. и дополн. – СПб. : Крисмас+, 2014. – 108 с.

Руководство по анализу воды. Питьевая и природная вода, почвенные вытяжки / под ред. к.х.н. А.Г. Муравьёва. – Изд. 4-е, перераб. и дополн. – СПб. : Крисмас+, 2018. – 360 с.

Руководство по применению мини-экспресс-лаборатории «Пчёлка-Р» / под ред. к.х.н. А.Г. Муравьёва – Изд. пятое, дополненное. СПб. : – Крисмас+, 2019. – 88 с.

Савинков Ю.А. Формирование универсальных учебных действий современными средствами обучения / Ю.А. Савинков, Т.В. Дубовицкая //Alma mater. – 2014. – № 1. С. 74–79.

Химический анализ почв. Руководство по применению почвенных лабораторий и тест-комплектов / под ред. к.х.н. А.Г. Муравьёва. – Изд. 3-е, перераб. и дополн. – СПб. : Крисмас+, 2015. – 136 с.

Экспресс-анализ экологических проб : практическое руководство / Ю.С. Другов, А.Г. Муравьёв, А.А. Родин – М. : БИНОМ. Лаборатория знаний, 2010. – 424 стр.

Эколого-аналитические методы исследования окружающей среды : учеб. пособие / Т.И. Прожорина, Н.В. Каверина, А.Н. Никольская и др. – Воронеж : Истоки, 2010. – 304 с.

2. ЭКОЛОГО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Выбор стратегии и тактики рационального природопользования и охраны окружающей среды невозможен без строгой научной оценки ее реального состояния. При этом особую роль играет контроль воздуха, воды и почвы как природных компонентов, подвергающихся непосредственному загрязнению. В настоящее время информация о состоянии отдельных компонентов окружающей среды собирается в основном путем отбора проб и их последующего анализа в лабораторных условиях. Разработаны и применяются дистанционные и автоматические методы средства контроля, но метод отбора проб продолжает играть существенную роль, так как не все характеристики могут быть измерены дистанционно, кроме того, отобранные пробы могут быть использованы в качестве контрольных замеров.

К качеству контроля токсичных веществ в окружающей среде, его надежности, точности должны предъявляться очень высокие требования. Методы определения должны быть достаточно чувствительными и избирательными, так как приходится работать с чрезвычайно малым количеством токсичных веществ, имеющим непостоянный количественный и качественный состав, при наличии в окружающей среде соединений, мешающих определению и способствующих образованию качественно новых веществ.

При этом необходимо учитывать возможности химических, фотохимических и биохимических превращений изучаемых веществ в объектах окружающей среды, а также миграцию изучаемых веществ из одной среды в другую и особенности их распределения в каждой из этих сред.

2.1. Отбор проб объектов окружающей среды

2.1.1. Отбор проб атмосферного воздуха и промышленных выбросов

В воздухе содержатся постоянные газы, большое количество веществ природного и антропогенного происхождения, качественный и количественный состав которых постоянно меняется. К таким веществам относятся пары воды, химические вещества в газо- и парообразном состоянии и в виде аэрозолей. Аэрозоли могут быть в виде твердой или жидкой дисперсной фазы, размеры частиц в воздушной среде постоянно изменяются, в процессе диффузии они могут перемещаться в воздухе и оседать на поверхности. На аэрозолях могут адсорбироваться различные газо- или парообразные химические вещества, твердые частицы могут растворяться в каплях аэрозоля.

Воздух является окислительной средой, в которой происходят химические и фотохимические превращения загрязняющих его веществ. Основная причина фотохимических превращений в атмосфере городов и промышленных районов – загрязнение воздуха органическими веществами (главным образом углеводородами нефти) и оксидами азота, образующимися в процессе высокотемпературного горения при окислении азота воздуха молекулярным кислородом.

Качественный и количественный состав загрязняющих атмосферный воздух веществ зависит также от метеорологических условий, топографических факторов: скорость ветра, температурные инверсии, барометрическое давление, влажность воздуха, рельеф местности, расстояние от источника выброса и его высота.

Загрязняющие вещества постоянно подвергаются сложным процессам превращения, взаимодействия, вымывания и т.д. Знание состава веществ, загрязняющих воздух, необходимо для правильного выбора метода анализа, учета мешающего действия. Это повышает надежность результатов анализа.

Надежность контроля за загрязнением наряду с рассмотренными выше факторами зависит от способа отбора проб. При отборе проб необходимо знать агрегатное состояние и свойства исследуемых соединений.



*Рис. 2.1. Емкость полиэтиленовая газовая «ЕПГ»
(производство ЗАО «Крисмас+»)*

Контроль начинается с выбора места отбора пробы. Процесс отбора пробы воздуха является более трудоемким и ответственным, чем при отборе проб других сред. Это связано с тем, что концентрирование определяемых веществ обычно происходит в процессе отбора пробы. В зависимости от предполагаемого загрязнения воздуха отбор проб может проводиться с применением концентрирования или без него. В последнем случае отбор ведется в стеклянные шприцы, газовые пипетки, меш-

ки из полимерных пленок и др. (рис. 1.5). Погрешности при этом возникают из-за нарушения герметичности пробоотборных устройств, а также сорбции микроколичеств веществ внутренней поверхностью пробоотборников. Погрешности значительно устраняются путем многократного «промывания» пробоотборных емкостей исследуемым воздухом, а также путем определения допустимых сроков и условий их хранения. Этот способ применяется для отбора летучих веществ, содержащихся в воздухе в значительных концентрациях, а также при использовании для анализа метода газовой хроматографии, обладающего достаточно высокой чувствительностью определения.



Рис. 2.2. Аспиратор сильфонный АМ-5Е

При концентрировании микропримесей из воздуха насчитывается значительно больше факторов, способных стать причинами погрешностей, чем при концентрировании из других сред. При контроле воздуха используются эффективные способы отбора, дающие возможность концентрировать не менее 96 % микропримесей из воздуха.

Основным способом отбора исследуемого воздуха является его пропускание через сорбционное устройство (поглотительный сосуд, концентрационную трубку, фильтр) с помощью побудителя расхода воздуха с определенной скоростью, регистрируемой расходомерным устройством (ротаметром, реометром, газовыми часами). Для удобства отбора проб широко применяют аспирационные устройства, которые совмещают побудитель расхода и расходомерное устройство и позволяют отбирать вещества, находящиеся в различных агрегатных состояниях (рис. 2.2).

Чаще всего применяются электроаспираторы марки М-822 (рис. 1.4). Это переносной прибор с ручным способом регулирования и неавтоматической программой работы. Он прост по конструкции, имеет малые габаритные размеры и удобен в работе. Узлы аспиратора смонтированы на металлическом шасси с панелью, заключенной в кожух. Узлами его являются: электродвигатель, воздуходувка ротационного типа и

шланги для соединения ротаметров с воздухоудвкой. Аспиратор позволяет отбирать пробы одновременно по четырем каналам с регулированием скорости отбора по каждому каналу отдельно.

Газообразные и парообразные микропримеси отбираются в жидкие поглотительные растворы и на зерненные сорбенты: силикагель, активный уголь и др.

При отборе проб в жидкие поглотительные среды, анализируемые вещества растворяются или вступают в химическое взаимодействие (хемосорбция), последнее даёт большую полноту поглощения. Эффективность поглощения зависит также и от конструкции поглотительных сосудов. Для этих целей выпускают абсорбент специальной конструкции. Наиболее широко применяются следующие поглотительные сосуды:

1. Поглотитель со впаянной пористой стеклянной пластинкой

В этом сосуде воздух в виде мельчайших пузырьков поступает в поглотительный раствор и распыляет его, что обуславливает большой контакт воздуха с раствором. Скорость отбора пробы воздуха – до 3 л/мин.

2. Поглотитель Зайцева и поглотитель Полежаева

Эффективность поглощения вещества достигается за счет удлинения пути прохождения газовой воздушного потока через раствор. Скорость отбора пробы до 0,5 л/мин.

3. Поглотительный прибор Рыхтера

Здесь используется эффект эжекции. Эжекция – это отсасывание газов или жидкости за счет разряжения, создаваемого движущейся с большой скоростью рабочей средой (жидкостью, газом, паром).

Возможность «проскока» улавливаемой микропримеси выявляют путем измерения ее содержания во втором поглотителе, соединенном последовательно с первым.

Эффективность поглощения зависит от скорости и продолжительности аспирации исследуемого воздуха через поглотительную среду. Скорость аспирации считается оптимальной, если она согласуется со скоростью растворения или химического взаимодействия улавливаемых микропримесей.

В качестве поглотительных растворов применяют дистиллированную воду, органические растворители, кислоты, смешанные растворы.

Отбор на твердые сорбенты позволяет отбирать большие объемы воздуха, что необходимо при недостаточной чувствительности метода анализа. Кроме того, они удобны при хранении и транспортировке, обладают повышенными сорбционными свойствами при пониженных температурах.

При отборе проб воздуха нестабильных и реакционноспособных соединений применяют криогенное концентрирование. Оно заключается

в пропускании исследуемого воздуха через охлаждаемое сорбционное устройство (например, стальные или стеклянные трубки, заполненные инертным носителем – стеклянными шариками, стеклянной ватой и др.)

Концентрирование аэрозолей проводят на фильтрующих волокнистых материалах, лучше всего удовлетворяют всем необходимым требованиям аналитические фильтры аэрозольные (АФА), изготовленные из полимерной ткани.

При отборе проб фильтры крепят в специальном фильтродержателе. В процессе исследования атмосферного воздуха на фильтродержатель надевают разборную конусную насадку, состоящую из четырех конусов с разными диаметрами входных отверстий. Диаметр насадки выбирается в зависимости от скорости аспирации и движения воздуха.

Минимальный объем воздуха ($V_{\min}$), необходимый для анализа газо- и парообразных загрязнителей, вычисляют по формуле (2.1)

$$V_{\min} = a \cdot \frac{V}{V_1} \cdot \text{ПДК}, \quad (2.1)$$

где a – минимальное определенное количество вещества (чувствительность метода определения), мкг; V – общий объем поглотительного раствора, мл; V_1 – объем раствора, взятого для анализа, мл; ПДК – предельно допустимая концентрация этого вещества, мг/м³.

Иногда одно и то же вещество может находиться одновременно в виде паров и аэрозолей. Это в основном жидкости с высокой температурой кипения, попадая в воздух, их пары конденсируются, образуя аэрозоль конденсации (полициклические углеводороды). Для предварительной оценки агрегатного состояния микропримеси необходимо знать их летучесть. Летучесть (L) – это максимальная концентрация паров (в мг/л) при данной температуре, её рассчитывают по формуле (2.2)

$$L = 16 \cdot P \cdot M \cdot (273 + t), \quad (2.2)$$

где P – давление насыщенного пара при данной температуре, мм рт. ст.; M – молекулярная масса вещества; t – температура, °С.

Если летучесть при 20 °С ниже ПДК в 10 и более раз, то наличием паров пренебрегают и отбирают только аэрозоль. При превышении летучести над ПДК в 50 и более раз отбирают только пары.

Продолжительность отбора пробы зависит от чувствительности метода анализа и содержания микропримеси в воздухе. При исследовании атмосферных загрязнений определяют максимально разовые и среднесуточные концентрации.

В соответствии с ГОСТ 17.2.4.02-81 «Охрана природы. Атмосфера. Общие требования к методам определения загрязняющих веществ» метод измерений концентраций вредных веществ должен обеспечивать

определение на уровне 0,8 ПДК, с суммарной погрешностью $\pm 25 \%$ и отбором проб воздуха от 20 до 30 минут при определении максимально разовых концентраций, а также круглосуточного отбора пробы при определении среднесуточной концентрации. Круглосуточный отбор может проводиться способом круглосуточной аспирации или прерывистым способом, т.е. через равные промежутки времени в один и тот же абсорбер или в разные абсорберы с последующим усреднением результатов измерений за сутки.

Наблюдение за загрязнением атмосферы проводится на стационарных, маршрутных и передвижных (подфакельных) постах. Отбор проб под факелом проводят на высоте 1,5 м от поверхности земли в течение 20 – 30 минут. Пробы отбирают последовательно по направлению ветра на различных расстояниях от источника выброса (от 0,2 до 20 км).

Отбор проб воздуха в рабочей зоне проводится на местах постоянного и временного пребывания работающих при характерных производственных условиях с учетом:

- особенностей технологического процесса (непрерывный, периодический), температурного режима, количества выделяющихся вредных веществ и др.;
- расположения и работы оборудования, схемы воздухообмена помещений;
- планировки помещений (этажность зданий, наличие межэтажных проемов, связь со смежными помещениями и др.).

При наличии в воздухе нескольких химических веществ или сложной смеси относительно постоянного состава контроль воздушной среды допускается проводить по наиболее опасным и характерным компонентам.

Разовое измерение концентрации вредных веществ проводится при непрерывном или последовательном отборе в течение 15 мин в любой точке рабочей зоны. Если чувствительность методов анализа позволяет в течение 15 минут отобрать не одну, а несколько проб, то следует определить среднюю величину из отобранных проб. Для отдельных веществ, метод определения которых не позволяет обнаружить 0,5 ПДК за 15 мин отбора, допускается увеличение время отбора до 30 минут. Для веществ с остронаправленным механизмом действия время отбора не должно превышать 5 минут. Для получения достоверных результатов должно быть отобрано не менее 3 проб воздуха.

Измерение среднесменных концентраций проводится для веществ, которые имеют соответствующий норматив – ПДК среднесменная.

Среднесменную концентрацию измеряют при непрерывном или последовательном отборе проб в течение всей смены или не менее 75 % её продолжительности.

Метод контроля вредных веществ в рабочей зоне должен обеспечивать избирательное определение веществ на уровне не выше 0,5 ПДК в присутствии сопутствующих примесей с суммарной погрешностью не превышающей $\pm 25 \%$.

Для оценки загрязненности воздуха в жилых помещениях с различными отделочными материалами отбор проб ведется с соблюдением следующих правил:

- помещение перед отбором проб не проветривается в течение суток;
- пробы воздуха берутся в центре комнаты, у приборов отопления и наименее проветриваемом участке;
- пробы отбираются на высоте 0,75 и 1,5 м от пола;
- одновременно отбирают контрольную пробу наружного воздуха.

Очень важным фактором являются условия хранения проб. Так, пробы, отобранные на активные твердые сорбенты, можно хранить ограниченное время, в некоторых случаях необходимо охлаждение. Сконцентрированные вещества могут взаимодействовать между собой и с сорбентом. При значительной разнице температур в момент отбора и при хранении возможна десорбция сконцентрированных веществ, а также это может произойти и при концентрировании в жидкие поглощающие среды.

2.1.2. Отбор проб воды

Изучение загрязнения воды наряду с трудностями общего порядка (определение малых количеств загрязнителей в присутствии большого числа различных веществ и непостоянство их состава) имеет свои особенности. К ним относится сложный состав органических и неорганических веществ, постоянно содержащихся в незагрязненной воде; протекающие в воде процессы, приводящие к изменению состава химических веществ, складываются не только из чисто химических и фотохимических превращений. В химических превращениях существенное участие принимают биологические объекты животного и растительного происхождения. Поэтому содержание в воде кислорода является одним из важнейших показателей состояния водной системы. Особое значение для правильной оценки загрязнения воды, и в том числе для отбора проб, имеет распределение загрязняющих веществ.

Вода является уникальным растворителем. В ней в растворенном состоянии находятся почти все газы, имеющиеся в атмосфере. Загрязняющие вещества, попадая в воду, ведут себя по-разному. Одни растворяются или переносятся за счет движения водных масс, другие адсорбируются на взвешенных частицах и оседают на дно, третьи могут вовлекаться в биологические циклы и переноситься различными организмами.

Распределение веществ в воде зависит от многих локальных условий: скорости и характера движения воды, осадков, наносов, физико-химических свойств загрязняющих веществ, их устойчивости в воде и т.д. Обычно устанавливается динамическое равновесие между ними. Если условно расчесть водную массу вертикальной плоскостью, можно выделить места повышенной реакционной способности: поверхностную пленку, основную водную массу и донный осадок.

Природный осадок и поверхностная пленка являются зонами концентрирования загрязняющих веществ. На дно оседают нерастворимые в воде соединения, а сам осадок является хорошим сорбентом для многих веществ.

В поверхностной пленке (толщиной 50–500 мкм) протекают процессы массообмена между воздухом и водой, здесь содержатся загрязняющие вещества многих видов, т.е. в загрязненной воде имеются две зоны концентрирования: придонный осадок и поверхностная пленка.

Сведения об особенностях распределения загрязняющих веществ в воде способствуют успешному отбору проб и, следовательно, получению более надежных результатов анализа.

Процедура отбора проб воды регламентируется требованиями ГОСТ Р 51592 – 2000 «Вода. Общие требования к отбору проб», ГОСТ Р 51593 – 2000 «Вода питьевая. Отбор проб» и др.

Отбор проб воды может быть разовый или серийный, отбирают простые и смешанные пробы. Простые пробы отбирают однократно, смешанные пробы готовят из простых проб, отобранных либо одновременно в различных местах, либо в одном месте, но в разное время. Отбранные пробы должны быть сохранены от воздействия атмосферного воздуха и других загрязнений [Руководство по анализу воды, 2018].

Чаще всего на водоеме отбирают разовые пробы. Однако при обследовании водоема может возникнуть необходимость отбора серий проб: из поверхностного, глубинного, придонного слоев воды и т.д. Пробы отбираются также из подземных источников, водопровода и т.п. Усредненные данные о составе вод дают смешанные пробы.

Чтобы получить характеристику водоема, пробы воды не следует отбирать в местах, подверженных влиянию притоков (для водотоков) и в устьевых районах (для водоемов), вблизи населенных мест, предприятий, пристаней и в местах слабого водообмена, залива, заводах, зарослей макрофитов, в затонах, на мелководье.

При спуске сточных вод в водоемы, помимо исследования стоков, анализируется также состав воды в водоеме. В этом случае отбор проб производят в трех местах: выше выпуска, в месте полного перемешивания и на 1 км выше ближайшего пункта водопользования. Отбор проб производят на середине створа реки и на расстоянии 3–5 м от берегов с

глубины 30–50 см. Для получения более точных данных проводят лабораторные исследования средней пробы. Для этого в указанных местах по всей ширине водоема с интервалом 10–50 м отбирают отдельные пробы, каждая объемом 1 литр.

При централизованном водоснабжении в населенном пункте пробы воды из водоема берут в точке водозабора по глубине и по ширине реки. Допускается отбор и первичная оценка проб после наносов первого подъема.

Посуда для отбора проб должна быть чистой. Сосуды, предназначенные для отбора проб, предварительно моют, ополаскивают не менее трех раз отбираемой водой и закрывают стеклянными или пластмассовыми пробками, прокипяченными в дистиллированной воде. В общую посуду отбирают пробу на анализ только тех компонентов, которые имеют одинаковые условия консервирования и хранения.

Для отбора проб воды применяют батометры различной конструкции.

Сразу после отбора поверхностных вод проводят консервацию пробы, т.к. при хранении, транспортировке возможны потери легколетучих компонентов или изменение их составов. В качестве консервирующих веществ применяют различные соединения. В методиках даются ссылки на необходимые консерванты или указаны допустимые условия хранения проб.

Эти же методики могут быть использованы для исследования снеговых проб. Для этого составляют снеговую пробу и 5 выемок «конвертом» на площади 1 м². Снег помещают в стеклянную емкость с крышкой. После таяния снега его исследуют в условиях анализа проб воды.

2.1.3. Отбор проб почвы

Почва является одним из важнейших объектов окружающей среды, дающей более 90 % продуктов питания и сырья для производства самой разнообразной продукции.

Почвы весьма сложны и разнообразны по составу. В них содержатся минералы, органические вещества (образующиеся в результате разложения растительной биомассы), вода, воздух, различные микроорганизмы, грибки, бактерии и др. В почве происходят сложные физико-химические, биологические и другие процессы. В отличие от других объектов окружающей среды (воздух, вода), где протекают и процессы самоочищения, почва обладает этими свойствами в незначительной мере. Более того, для некоторых веществ, в частности для тяжелых металлов, почва является емким акцептором. Тяжелые металлы прочно сорби-

руются и взаимодействуют с почвенным гумусом, образуя труднорастворимые соединения. Вместе с этим в почве под воздействием различных факторов происходит постоянная миграция попадающих в нее веществ и перенос их на большие расстояния.

Загрязняющие почву вредные вещества (например, щелочные металлы, содержащиеся в почве в виде растворимых соединений) могут переходить в воду, растения и, следовательно, в организм животных. Эти вещества перемещаются с грунтовыми и дождевыми водами, при таянии снега. Опавшие листья, содержащие тяжелые металлы и другие токсичные вещества, переносятся дождем и ветром на большие расстояния. Также переносятся вредные вещества с пылью от загрязненной почвы. Степень вреда, наносимого людям загрязнениями, зависит от способности растений поглощать загрязняющие почва вещества (рис. 2.3).



*Рис. 2.3. Тест-комплект «Нитраты в солевой вытяжке»
(производство ЗАО «Крисмас+»)*

Почвы могут быть хорошим сорбентом многих химических веществ. Максимальное содержание металлов в почве наблюдается на расстояниях 1–5 км от источника загрязнения (ближняя зона). Они могут превышать фоновые уровни на 1–2 порядка. По мере удаления от источника загрязнения содержание металлов уменьшается и на расстоянии 15–20 км приближается к фоновому уровню. Глубина проникновения тяжелых металлов в загрязненных почвах обычно не превышает 20 см, при сильном загрязнении – до 160 см.

Обычно все химические вещества поглощаются поверхностным плодородным слоем почвы, где также находятся и пестициды. Тяжелые глинистые почвы удерживают пестициды дольше, чем легкие песчаные.

Отбор проб почвы ведут в соответствии с ГОСТ 17.4.4.02.84 «Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовка проб для химического, бактериологического, гельминтологического анализа», предназначенного для контроля общего и локального загрязнения почвы в рай-

онах воздействия промышленных, сельскохозяйственных, хозяйственно-бытовых, транспортных источников загрязнения.

Точечные пробы отбирают методом конверта, по диагонали или другим способом, исходя из того, чтобы каждая проба представляла собой часть почвы, типичной для генетических горизонтов. Объединенную пробу готовят из точечных проб.

При определении в почве поверхностно-распределяющих веществ (нефть, нефтепродукты, тяжелые металлы) точечные пробы отбирают послойно на глубине от 0 до 5 см и от 5 до 20 см массой до 0,2 кг.

Для анализа загрязнения почвы легколетучими или химически нестойкими веществами пробы отбирают по всей глубине почвенного слоя и помещают в стеклянные емкости, закрывающиеся герметично крышками. При контроле загрязнения почв пестицидами и минеральными удобрениями анализ пробы проводят в день отбора в естественно-влажном состоянии. При невозможности быстрого анализа пробы, например, на хлорорганические пестициды, их высушивают до воздушно-сухого состояния в темном помещении. Пробы хранят в холодильнике при температуре не выше 4 °С не более 30 суток, пробы на фосфорорганические пестициды хранят в холодильнике без высушивания не более 10 суток [Муравьев А.Г. и др., 2015; Химический анализ..., 2015].

2.2. Измерение концентрации загрязнителя

Стадия «измерение» представляет собой аналитическое определение концентрации загрязнителя, включая выбор метода анализа, подготовки пробы согласно выбранному методу, калибровки применяемых приборов, проверки методов с помощью стандартов, проведение холостых опытов и т.п.

При выборе метода анализа из числа стандартных или при отсутствии таковых следует учитывать точность, чувствительность, предел обнаружения, селективность, производительность и другие, технические и экономические показатели существующих методов.

Но не каждый результат, полученный аналитиком, может иметь юридическую силу, так же как и не каждый метод может быть признан «арбитражным». В Российской Федерации такой юридической силой обладают методы (методики), имеющие официальный статус, т.е. внесенные в какой-либо утвержденный государственным органом перечень или регламентирующий нормативно-методический (нормативно-технический) документ. В настоящий момент такими документами являются:

– государственные стандарты (союзные ГОСТ или российские ГОСТ Р);

- руководящие документы, утвержденные Росгидрометом (например, РД 52.18.595 - 96);
- методические указания по контролю, утвержденные Роспотребнадзором Минздрава России;
- природоохранные нормативные документы федеральные, входящие в Госреестр методик количественного химического анализа и оценки состояния объектов окружающей среды, допущенных для целей государственного экологического контроля и утвержденных Госкомэкологии России.

Для контроля загрязняющих веществ в объектах окружающей среды применяются все современные методы аналитической химии, которые позволяют проводить макроанализ, микроанализ, ультро-микроанализ, субмикроанализ и следовой анализ. Эти термины характеризуют концентрации загрязняющих веществ в анализируемой среде и объем или массу пробы.

Методы отличаются различной точностью и чувствительностью определения загрязняющих веществ. Так к низкочувствительным относятся химические методы, биологические методы высокочувствительны, но не количественны. Высокочувствительными являются люминесцентные методы, кинетические методы, иммуно-ферментативные методы, хромат-спектрометрия, хроматография и др.

Например, для определения сверхнизких концентраций ионов высокотоксичных тяжелых металлов применяются методы оптической спектроскопии и люминесценции. Для определения органических супертоксикантов наряду с хроматографией применяют методы хромато-масс-спектрометрии (сегодня это единственный метод определения следов диоксинов), иммунохимические и флуоресцентные методы.

2.3. Математическая обработка данных и их проверка

Математическая обработка полученных данных обычно проводится следующим образом.

Если $X_1, X_2 \dots X_n$ – отдельные измерения искомой концентрации загрязнителя (результаты параллельных определений), то находят среднее арифметическое $\bar{X}$ по формуле

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i, \quad (2.3)$$

где n – число измерений.

Затем вычисляют абсолютную случайную погрешность i -го измерения

$$\Delta x = x_i - \bar{x}, \quad (2.4)$$

среднюю квадратичную погрешность каждого измерения

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n \Delta x_i^2}{n-1}} \quad (2.5)$$

и относительную квадратичную погрешность отдельного измерения

$$\delta_x = \frac{\delta}{\bar{x}}. \quad (2.6)$$

Из (5) рассчитывают среднюю квадратичную погрешность среднего арифметического

$$\bar{\sigma} = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad (2.7)$$

и относительную квадратичную погрешность среднего арифметического

$$\delta_{\bar{x}} = \frac{\bar{\delta}}{\bar{x}}. \quad (2.8)$$

Истинное значение искомой концентрации загрязнителя с надежностью (вероятностью Р) лежит в доверительном интервале:

$$\bar{x} \pm t_p \bar{\delta}, \quad (2.9)$$

где t_p – коэффициент Стьюдента, зависящий от числа измерений и ожидаемой (заданной) надежности Р (табл. 2.1).

Таблица 2.1

Коэффициент Стьюдента (t_p) при надежности (Р) равной 0,95, в зависимости от числа измерений (n)

n	3	5	7	9	20	30	∞
t_p	3,182	2,571	2,365	2,262	2,086	2,043	1,96

Если для некоторого i-го измерения

$$|\Delta X_i| > 3\delta, \quad (2.10)$$

то это измерение отбрасывается как содержащее грубую ошибку и все величины по формулам (2.3) – (2.9) пересчитываются заново.

Ошибки любых измерений, в том числе и аналитических, могут быть:

а) систематическими (в анализе они зависят от применяемого метода, неполноты протекания реакции, погрешности приборов, техники исполнения);

б) случайными (зависящими от случайных загрязнений, изменения напряжения в электрической сети, изменения температуры в лаборатории, случайных изменений режима определения);

в) грубыми (из-за ошибок оператора, поломок аппаратуры и т.п.)

Систематические ошибки можно предвидеть и свести к минимуму, случайные обнаруживаются при математической обработке по (2.3) – (2.9), а грубые обнаруживаются на основе критерия (2.10).

2.4. Интерпретация и сравнение полученных данных

Эта стадия аналитического контроля является наиболее творческой и проводится путем анализа полученного массива результатов и их сравнения с литературными, собственными, более ранними, теоретическими и другими данными. При этом анализируются возможные зависимости и взаимосвязи между концентрациями загрязнителей и другими параметрами среды.

При обсуждении пригодности и вариантов применения разных аналитических методов для определения концентрации загрязнителей прежде всего обращается внимание на чувствительность и предел обнаружения этих методов.

Чувствительность (Н) можно рассчитать по данным калибровки измерительного прибора (фотоколориметра, спектрофотометра и т.д.). При калибровке, используя растворы с известным содержанием загрязнителя, экспериментально строят зависимость некоторого фиксируемого физического параметра (оптической плотности, силы тока и т.п.) от концентрации или количества загрязнителя в пробе. На графике концентрация откладывается по оси абсцисс (х), а физический параметр по оси ординат (у).

$$H = \left(\frac{\partial y}{\partial x} \right)_{x_i}, \quad (2.11)$$

или

$$H = \frac{\Delta y}{\Delta x} = \frac{\Delta D}{\Delta C}, \quad (2.12)$$

где D – оптическая плотность; C – концентрация.

Предел обнаружения метода (наименьшая концентрация C_m , которая может быть обнаружена с разумной достоверностью) можно рассчитать по формуле (2.13)

$$C_m = \frac{3\sigma_\phi}{H}, \quad (2.13)$$

где σ_ϕ – средняя квадратичная погрешность отдельного изменения фона y_ϕ , найденная по (2.5) и результатам экспериментального определения фона или через минимально определяемое значение физического параметра по калибровочному графику

$$\overline{y_m} = \overline{y_\phi} + 3\sigma_\phi. \quad (2.14)$$

Если предел обнаружения загрязнителя выше, чем его ожидаемая концентрация в объекте окружающей среды, необходимо провести концентрирование загрязнителя.

Для этой цели наиболее часто используется экстракция, реже – хроматография. Необходимый коэффициент концентрирования легко получить из составления предела обнаружения метода и ожидаемой концентрации загрязнителя.

Определенная информация о правильности стадий аналитического контроля может быть получена путем систематической проверки каждой стадии. Проверку начинают со стадии количественного анализа.

Другое требование к аналитической информации – ее сопоставимость. Оно напрямую связано с необходимостью использования данных разными операторами или в разных лабораториях, причем сопоставимость во многом зависит от погрешности анализа в целом. Если точность результатов не одинакова, то сопоставлять их (а тем более делать на их основе выводы) опасно.

Лабораторная работа № 1. Расчет доверительного интервала метода

Задача. В семи пробах донного ила обнаружили соответственно 0,0227; 0,0237; 0,0221; 0,0232; 0,0230; 0,0265 и 0,0255 г U_3O_8 . Необходимо провести математическую обработку этих результатов. Найти доверительный интервал с надежностью 95%. Применить правило 3σ для нахождения грубых ошибок.

Решение

По уравнению (2.3) находим $\bar{X} = 0,0238$, затем по (2.4) вычисляем Δx_i для каждого x_i и получаем следующий ряд значений Δx_i : – 0,0011; – 0,0001; – 0,00017; – 0,0006; – 0,0008; 0,0027 и 0,0017, из которого по (2.3) находим

$$\sigma = \sqrt{\frac{1,529 \cdot 10^{-5}}{6}} = 0,0016$$

и из (2.7)

$$\bar{\sigma} = \frac{0,0016}{\sqrt{7}} = 0,0006.$$

По (2.6) и (2.8) $\delta_x = 0,07$; $\delta_{\bar{x}} = 0,03 t_p$ при 7 измерениях с надежностью 0,95 составляет 2,365 (значение таблицы 2.1). Составляем доверительный интервал согласно (2.9):

$$0,0238 \pm 2,365 \cdot 0,0006 = 0,0238 \pm 0,0014.$$

Среди значений Δx_i нет величин превышающих $3\sigma = 0,0048$.

Лабораторная работа № 2. Расчет чувствительности и пределов обнаружения фотометрического метода

При разработке фотоколориметрического определения бора в природных водах получили следующие результаты (табл. 2.2):

Таблица 2.2

Исходные сведения к работе

С, мкг/мл	2,0	3,0	5,0	7,0	8,0
Оптическая плотность, Д	0,058	0,089	0,0143	0,185	0,220

При определении фона на холостых пробах оптические плотности (D_{ϕ}) оказались равными: 0,007; 0,005; 0,004; 0,008 и 0,003. Найти чувствительность и предел обнаружения данного метода.

В природных водах содержание бора обычно составляет 0,1 – 0,01 мг/л. Можно ли его определять данным методом?

Решение

По этим данным строим калибровочный график, из которого согласно (2.10) вычисляем чувствительность H по формуле (2.12):

$$H = \frac{\Delta D}{\Delta C} = \frac{0,082}{3,0} = 0,027 \frac{\text{ед. опт. пл}}{\text{мкг/мл}}.$$

Затем по формулам (2.3) и (2.5) находим

$$\overline{D_{\phi}} = 0,005 \text{ и } \sigma_{\phi} = 0,002.$$

По (2.13) определяем предел обнаружения

$$C_m = \frac{0,006}{0,027} = 0,22 \text{ мкг/л.}$$

или по (2.14) определяем

$$D_{\min} = 0,005 + 0,006 = 0,011 \text{ ед. опт. пл}$$

и по градуировочному графику находим

$$C_m \approx 0,2 \text{ мкг/л.}$$

Согласно условиям концентрация бора лежит в интервале

$$0,01 \div 0,1 \frac{\text{мг}}{\text{л}} = 0,01 \div 0,1 \frac{\text{мкг}}{\text{мл}}.$$

Сравнивая эти величины с пределом обнаружения, видим, что нижний предел обнаружения в 20 раз, а верхний – в 2 раза меньше предела обнаружения, следовательно, для достижения предела обнаружения эти растворы необходимо сконцентрировать в 20 и 2 раза соответственно. А для надежного определения коэффициенты концентрирования же-

лательно увеличить в 2–4 раза, например, при концентрировании в 60 и 6 раз соответственно бор будет надежно определяться во всех растворах.

При поиске источника загрязнения атмосферы, т.е. на первой стадии, используются быстродействующие автоматические приборы типа «течеискатель» и ручные экспресс-газоопределители с индикаторными трубками, основанными на «линейно-колориметрическом» принципе измерения аналитического эффекта.

Наиболее перспективным таким прибором является фотоионизационный газоанализатор типа «Комон». Чувствительный (предел обнаружения $0,1 \text{ мг/м}^3$ диапазон определения $2 - 2000 \text{ мг/м}^3$), погрешность измерения $\pm 25 \%$, работает на встроенной батарее или аккумуляторе, результат выдает на жидкокристаллическом дисплее. Является средством оперативного контроля атмосферы. Недостаток приборов этой серии – они не специфичны. Будучи основанными на фотоионизационном эффекте (возникновении интегрального ионизационного тока в измерительной камере под действием ультрафиолетового излучения при попадании в нее легко диссоциирующих веществ), эти приборы измеряют токовый сигнал, пропорциональный суммарной концентрации анализируемых веществ, не различая при этом особенности их природы и химических свойств.

Для компенсации этого недостатка и первичной оценки источника загрязняющих веществ применяются в качестве экспрессных средств экоаналитического контроля «на месте» линейно-колориметрические индикаторные трубки с метрологически аттестованным аспиратором (насосом–пробоотборником).

Мини-экспресс-лаборатории типа «Пчёлка-Р», являясь дешевыми и простыми в эксплуатации «ручными» средствами контроля воздушной среды, основаны на применении индикаторных трубок.

Индикаторные и применяемые вместе с ними (для вспомогательных целей) фильтрующие трубки представляют собой герметично запаянные с обоих концов стеклянные трубочки малого диаметра. Внутри них находятся индикаторные массы в виде хемосорбента, специфично изменяющие окраску в результате химической реакции при прохождении через слой сорбента воздуха, содержащего определяемое вещество. Длина прореагировавшего окрашенного слоя хемосорбента зависит от концентрации загрязняющего вещества и от объема пропущенного воздуха. С помощью прилагаемой градуировочной шкалы по длине окрашенного слоя определяется концентрация.

Внутри фильтрующих трубок находится наполнитель, пропускающий вещество, но улавливающий мешающие определению соединения. Основная относительная погрешность измерения $\pm 25 \%$.

Лабораторная работа № 3. Расчет навесок для приготовления почвенных вытяжек

Для анализа почв часто используют методы, позволяющие анализировать растворы, т.е. почвенные вытяжки: водную, солевую или кислотную. В случае **солевой вытяжки** к почве добавляют раствор хлорида калия с концентрацией 1 г-экв /л из расчета 2,5 мл раствора соли на 1 г почвы. Такой раствор соли можно приготовить, растворив 38 г (0,5 г-экв) сухой соли хлорида калия (KCl) в 0,5 л дистиллированной воды, используя мерную колбу.

В случае **кислотной вытяжки** к почве добавляют раствор азотной кислоты с концентрацией 1,5 г-экв/л из расчета 2,5 мл раствора кислоты на 1 г почвы. Такой раствор кислоты можно приготовить, растворив 68 мл (0,5 г-экв) концентрированной азотной кислоты (HNO_3) в 0,5 л дистиллированной воды с помощью мерной колбы. Раствор следует готовить в термостойкой посуде, добавляя осторожно малыми порциями кислоту в воду (а не наоборот).

Кроме того, для приготовления кислотной вытяжки могут быть использованы растворы таких кислот, как H_2SO_4 , HCl и другие.

Поэтому для приготовления почвенных вытяжек необходимо уметь рассчитывать навески основных неорганических соединений.

Для приготовления растворов кислот, щелочей и солей наиболее распространены следующие способы выражения концентрации раствора: процентная, молярная и нормальная [Глинка, 1983; Прожорина Т.И., 2009, ч. 2].

Процентная концентрация ($C\%$) показывает число граммов растворенного вещества, содержащихся в 100 г раствора.

Например, 4 %-й раствор KCl показывает, что в 100 г раствора содержится 4 г KCl (всего 4г KCl + 96 г H_2O).

Задача № 1. Рассчитать навеску KOH для приготовления 200 мл 5 %-го раствора KOH.

Решение

5 г KOH – в 100 г р-ра

X г KOH – в 200 г р-ра X = 10 г KOH

Молярная концентрация (C_M) показывает число молей растворенного вещества, содержащихся в 1 л раствора (т.е. в 1000 мл раствора).

Например, 5 М раствор NaOH показывает, что в 1 л раствора содержится 5 молей NaOH.

Задача № 2. Рассчитать навеску для приготовления 500 мл 0,5М раствора KCl.

Решение

$$1) M(KCl) = 39,1 + 35,5 = 74,6 \text{ г KCl}$$

$$2) 74,6 \text{ г KCl} - 1 \text{ М р-р}$$

$$X \text{ г KCl} - 0,5 \text{ М р-р} \quad X = 37,3 \text{ г KCl}$$

$$3) 37,3 \text{ г KCl} - 1000 \text{ мл р-ра}$$

$$X \text{ г KCl} - 500 \text{ мл р-ра} \quad X = 18,65 \text{ г KCl}$$

Нормальная концентрация (C_H) показывает число эквивалентов растворенного вещества, содержащихся в 1 л раствора (т.е. в 1000 мл раствора).

Эквивалент вещества рассчитывается исходя из класса неорганического соединения:

$$\mathcal{E}(\text{кислоты}) = \frac{\text{Мол. масса кислоты}}{\text{основность кислоты}},$$

$$\mathcal{E}(\text{основания}) = \frac{\text{Мол. масса основания}}{\text{кислотность основания}},$$

$$\mathcal{E}(\text{соли}) = \frac{\text{Мол. масса соли}}{A \cdot B},$$

где A – число атомов металла соли; B – валентность металла соли.

Таблица 2.3

Физико-химические характеристики некоторых кислот

Название кислоты	Плотность при 20 °С, г/см ³	Концентрация кислоты, %
H ₂ SO ₄	1,834	95
HNO ₃	1,40	67
HCl	1,19	37
CH ₃ COOH (ледяная)	1,05	100
H ₃ PO ₄	1,70	85
NH ₃	0,907	25
HClO ₄ (хлорная)	1,54	60

Задача № 3. Рассчитать навеску для приготовления 1,5 л 0,02 н раствора Al₂(SO₄)₃.

Решение

$$1) \mathcal{E}(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3) = 342 / 2 \cdot 3 = 57 \text{ г/моль}$$

$$2) 57 \text{ г Al}_2(\text{SO}_4)_3 - 1 \text{ н раствор}$$

$$X \text{ г Al}_2(\text{SO}_4)_3 - 0,02 \text{ н раствор}$$

$$X = 1,14 \text{ г Al}_2(\text{SO}_4)_3$$

$$3) 1,14 \text{ г Al}_2(\text{SO}_4)_3 - 1000 \text{ мл раствора}$$

$$X \text{ г Al}_2(\text{SO}_4)_3 - 1500 \text{ мл раствора}$$

$$X = 1,71 \text{ г Al}_2(\text{SO}_4)_3$$

Примечание. Навеску для приготовления раствора кислоты рассчитывают не в граммах, а в «мл». Для пересчета используют формулу (2.15):

$$V = \frac{M}{\rho_{\text{кислоты}}}. \quad (2.15)$$

В табл. 2.3 приведены справочные данные для пересчета навески некоторых кислот из «г» в «мл».

Задача № 4. Рассчитать навеску для приготовления 500 мл 0,5 н раствора H_2SO_4 . Ответ дать в мл (плотность 95 %-й H_2SO_4 при 20 °C равна 1,834 г/см³).

Решение

1) Э (H_2SO_4) = 98 / 2 = 49 г/моль

2) 49 г H_2SO_4 – 1 н раствор

X г H_2SO_4 – 0,5 н раствор

X = 24,5 г H_2SO_4

3) 24,5 г H_2SO_4 – 1000 мл раствора

X г H_2SO_4 – 500 мл раствора

X = 12,25 г H_2SO_4

4) так как исходная серная кислота имеет концентрацию 95 %, то делаем пересчет на необходимое количество кислоты:

в 100 г исходной концентрированной H_2SO_4 – 95 г H_2SO_4

X г исходной концентрированной H_2SO_4 – 12,25 г H_2SO_4

X = 12,89 г H_2SO_4

5) так как в граммах кислоту не взвешивают, то переводим «г» в «мл» по формуле (2.15).

Из табл. 2.3 находим, что плотность серной кислоты равна 1,834 г/см³. Тогда

$$V = 12,89 / 1,834 = 7,03 \text{ мл } \text{H}_2\text{SO}_4$$

6) раствор готовят следующим образом. Берут мерную колбу на 1 л и наливают в нее примерно половину дистиллированной воды. Затем мерной пипеткой отмеряют 7,03 мл исходной концентрированной серной кислоты и переносят в колбу (т.е. кислоту добавляют в колбу, а не наоборот). Оставшееся количество доводят до метки дистиллированной водой.

Внимание! Раствор кислоты готовят под тягой!

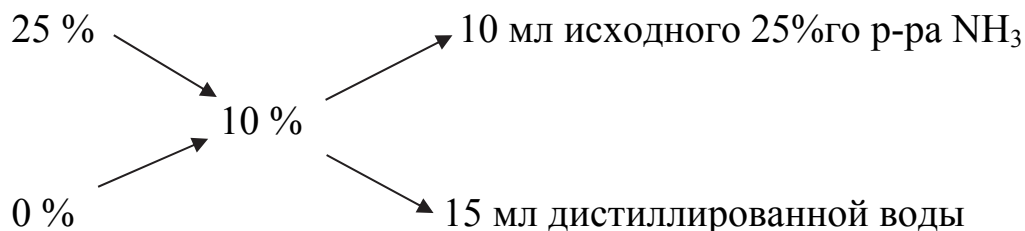
Часто исходные реактивы изначально продаются в виде водных растворов. Например, 25%-й р-р аммиака, 33%-й р-р перекиси водорода, 37%-й р-р HCl и др. Если для анализа необходима меньшая концентрация реактива, то исходный водный раствор разбавляют дистиллированной

ной водой в определенной пропорции в соответствии с «**правилом креста**».

Задача № 5. Используя «правило креста», рассчитать необходимое количество (в мл) исходного 25%-го NH_3 и дистиллированной воды для приготовления 100 мл 10%-го раствора аммиака.

Решение

По «правилу креста» находим:



Таким образом, общее количество раствора составит 25 мл (т.е. 10 мл исходного 25 %-го раствора аммиака + 15 мл дистиллированный воды). Чтобы получить 100 мл заданного раствора, увеличим все в 4 раза.

Примеры для самостоятельной работы

Задача № 6. Рассчитать навеску NaCl для приготовления 350 мл 2% раствора NaCl .

Задача № 7. Рассчитать навеску $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ для приготовления 1,5 л 3,5%-го раствора $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$.

Задача № 8. Рассчитать навеску для приготовления 200 мл 0,3 М раствора $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$.

Задача № 9. Рассчитать навеску для приготовления 500 мл 0,05 М раствора H_3PO_4 . Ответ дать в мл (плотность 85%-го H_3PO_4 при 20 °С равна 1,7 г/см³).

Задача № 10. Рассчитать навеску для приготовления 500 мл 1,5 н раствора Na_2CO_3 .

Задача № 11. Рассчитать навеску для приготовления 250 мл 0,5 н раствора HCl . Ответ дать в мл (плотность 37%-го HCl при 20 °С равна 1,19 г/см³).

Задача № 12. Пользуясь «правилом креста», рассчитать навеску для приготовления 200 мл 10%-го раствора соляной кислоты из исходной концентрированной 37%-й HCl .

Задача № 13. Пользуясь «правилом креста», рассчитать навеску для приготовления 250 мл 3%-го раствора перекиси водорода из исходного концентрированного раствора 33%-й H_2O_2 .

Лабораторная работа № 4. Построение калибровочного графика по методу наименьших квадратов

Зависимость оптической плотности от концентрации вещества в растворе выражается уравнением прямой линии, проходящей через начало координат:

$$\frac{y}{x} = \operatorname{tg} \alpha.$$

Отсюда $y = \operatorname{tg} \alpha \cdot x$ или $D = B_1 \cdot C$, где D , или y – оптическая плотность; C или x – концентрация стандартных растворов; $B_1 = \operatorname{tg} \alpha$.

Если график проходит через начало координат, то уравнение приобретает следующий вид:

$$y = B_0 + B_1 \cdot x,$$

где B_0 – отрезок, отсекаемый прямой от оси y (D); $B_1 = \operatorname{tg} \alpha$; x – концентрация стандартных растворов.

При построении калибровочного графика проводят среднюю линию между всеми полученными точками (зависимость оптической плотности стандартных растворов от концентрации вещества в растворе). Если существует большой разброс точек, то для построения графика применяют метод наименьших квадратов.

Условие метода наименьших квадратов: сумма квадратов расстояний от точек до линии должна быть минимальной.

Применив это условие, получают систему уравнений (2.16), из которой можно определить значение B_0 и B_1 и решить уравнение (2.17).

$$\begin{cases} B_0 = \frac{\sum y_i \cdot \sum x_i^2 - \sum x_i \cdot \sum y_i \cdot x_i}{n \cdot \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2} \\ B_1 = \frac{n \cdot \sum x_i \cdot y_i - \sum x_i \cdot \sum y_i}{n \cdot \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2} \end{cases} \quad (2.16)$$

$$y = B_0 + B_1 \cdot x, \quad (2.17)$$

где y – величина оптической плотности D ; n – количество точек.

Для расчетов заполняется таблица 2.4.

Строят 6 шкал, y_i – оптическая плотность каждого стандартного раствора. Калибровочный график проводится по величинам $y(D)$, полученным расчетным путем.

Таблица 2.4

Таблица данных для расчета

№	x_i	y_i сред.	x_i^2	$x_i \cdot y_i$	B_0	B_1	$y = B_0 + B_1 \cdot x$
x_1							
x_2							
x_3							
x_4							
x_5							
x_6							
$n = 6$	$\sum x_i$	$\sum y_i$	$\sum x_i^2$	$\sum x_i \cdot y_i$			

Задача № 1. Опытным путем получены значения зависимости концентрации раствора (x) и соответствующей ей оптической плотности (y).

Решение. Заполняем таблицу 2.4:

№	x_i	y_i сред.	x_i^2	$x_i \cdot y_i$	B_0	B_1	$y = B_0 + B_1 \cdot x$
x_1	1	5,2	1	5,2	4,3	0,974	$y = 4,3 + 0,974 \cdot x$
x_2	2	6,3	2	12,6			
x_3	3	7,1	3	21,3			
x_4	4	8,5	4	34,0			
x_5	5	9,2	5	46,0			
x_6	6	10,0	6	60,0			
$n = 6$	$\sum x_i = 21$	$\sum y_i = 46,3$	$\sum x_i^2 = 91$	$\sum x_i \cdot y_i = 179,1$			

2.5. Оценка качества воздуха и промышленных выбросов

Атмосферный воздух является жизненно важным компонентом окружающей природной среды, неотъемлемой частью среды обитания человека, растений и животных. Охрана атмосферного воздуха, т.е. воздушного бассейна городов и промышленных районов, направлена на защиту от вредных промышленных и транспортных выбросов, отрицательно влияющих как на организм человека, так и на инженерные объекты.

Из-за высоких темпов городского и промышленного строительства, увеличения объемов производства, роста населения загрязнение воздушного бассейна остается еще достаточно высоким. Сжигание ископаемых видов топлива является главным источником загрязнения воздуха и одной из основных причин деградации водных и земельных ресурсов. При сгорании угля и нефти образуются окись углерода и мельчайшие твердые частички, которые вызывают заболевание органов ды-

хания; окислы азота и серы способствуют образованию городского смога и вызывают кислотные дожди.

В разделе представлены лабораторные работы, в которых использованы инструментальные лабораторные методы определения вредных примесей в атмосфере, воздухе рабочей зоны, а также современные подходы к очистке воздуха от вредных примесей на примере типовой лаборатории «Экология и охрана окружающей среды», которую производит и поставляет НПО ЗАО «Крисмас+» (г. С.-Петербург).

Лабораторная работа № 5. Гравиметрическое определение запыленности воздуха

Гравиметрический метод применяется для определения разовых и среднесуточных концентрации взвешенных частиц пыли в воздухе населенных пунктов и санитарно-защитных зон в диапазоне $0,04 - 10 \text{ мг/м}^3$.

Запыленность воздуха определяется по привесу, полученному после аспирации воздуха через аэрозольный фильтр.

Отбор проб

Для определения разовых концентраций пыли исследуемый воздух протягивается через фильтр АФА – ВП – 20 со скоростью 40 л/мин в течение 30 мин. Фильтр перед отбором доводится до постоянного веса (рис. 2.4).

При определении среднесуточной концентрации пыли исследуемый воздух протягивают через один и тот же фильтр 6 раз по 30 мин с той же скоростью, что и при отборе разовых концентраций, через равные промежутки времени. Срок хранения отобранных проб в герметичной упаковке не ограничен.



Рис. 2.4. Общий вид фильтров АФА – ВП – 20 и фильтродержателя

Оборудование и материалы

1. Устройство улавливающее: фильтродержатель, фильтр АФА – ВП – 20, аспиратор для отбора проб (рис. 1.4).

2. Стакан-насадка на фильтродержатель металлический разборный конусовидный для регулирования объема пропускаемого воздуха с учетом скорости ветра.

3. Аналитические весы.

4. Эксикатор.

5. Пинцет с пластмассовыми наконечниками.

6. Чашки стеклянные диаметром 5 и 10 см.

Ход анализа

После отбора фильтр выдерживают в помещении, где производилось первое взвешивание, и доводят до постоянного веса.

Если отбор проводился при относительной влажности воздуха около 100 %, то фильтр нужно поместить в стеклянной чашке в эксикатор с плавленным CaCl_2 на 30 мин, а затем выдержать 40 мин в условиях комнатной температуры и влажности.

Обработка результатов

Концентрацию пыли C мг/м³ вычисляют по формуле (2.18)

$$C = \frac{M}{V_0} \quad (2.18)$$

где M – масса пыли на фильтре, равная разности масс запыленного и чистого фильтра, мг; V_0 – объем аспирированного воздуха, приведенный к нормальным условиям, м³, рассчитывается по формуле (2.19).

Под нормальными условиями подразумевается температура 0°C и атмосферное давление 101,3 кПа.

$$V_0 = \frac{V_t \cdot P \cdot 273}{(273 + t) \cdot 101,3}, \quad (2.19)$$

где V_t – объем аспирированного воздуха при температуре t и атмосферном давлении P кПа, м³; 273 – коэффициент расширения газов; 101,3 – нормальное давление, кПа.

Лабораторная работа № 6. Определение диоксида серы в воздухе турбодиметрическим методом

Диоксид серы – наиболее вредный газ из распространенных загрязнителей воздуха. Он вызывает заболевание дыхательных путей, ведет к возникновению хронического бронхита.

Установлена линейная зависимость (2.20) между концентрацией SO_2 в воздухе и частотой заболевания хроническим бронхитом:

$$y = 14,5 \cdot x - 1,3, \quad (2.20)$$

где y – процент заболеваний бронхитом, %; x – концентрация SO_2 в воздухе, мг/м^3 .

Отсюда видно, что при концентрации $\text{SO}_2 = 0,5 \text{ мг/м}^3$ (т.е. на уровне ПДК_{м.р.}) заболеваемость населения составляет 6 %. Среднесуточная концентрация SO_2 в воздухе населенных мест составляет $0,05 \text{ мг/м}^3$, класс опасности $\text{SO}_2 - 3$.

При турбодиметрическом методе поглощение монохроматического светового излучения происходит взвешенными твердыми частичками вещества, находящимися в растворе.

Метод основан на окислении SO_2 в процессе его улавливания из воздуха раствором перекиси водорода с последующим турбидиметрическим определением осадка, образующегося при взаимодействии сульфат-иона с хлоридом бария. Определению мешают сульфаты, серная кислота и сероводород. Влияние сульфатов и серной кислоты устраняют улавливанием их на фильтр АФА, который помещают перед поглотельным прибором в пластмассовом фильтродержателе.

Метод рекомендуется для определения разовых концентраций. Чувствительность определения 5 мкг в анализируемом объеме пробы. Диапазон измеряемых концентраций $0,08 - 1,5 \text{ мг/м}^3$ при отборе пробы объемом 80 литров .

Оборудование и материалы

1. Улавливающее устройство: аспиратор, поглотельный прибор Рыхтера, пластмассовый фильтродержатель с фильтром АФА.

2. Аналитические весы.

3. Барометр.

4. Термометр.

5. Фотоколориметр.

6. Глицерин (х.ч.).

7. Соляная кислота, конц. (пл. $1,19 \text{ х.ч.}$).

8. Спирт этиловый, ректификат.

9. Перекись водорода (H_2O_2), х.ч.

10. Калий сернокислый, безводный (х.ч.).

11. Поглотельный раствор: 10 мл 30% -го H_2O_2 растворяют в 1 л воды, $0,3\%$ -й раствор H_2O_2 хранят в темной склянке не более недели.

12. Барий хлористый, составной реактив: $5,85 \text{ г}$ BaCl_2 растворяют в 50 мл воды. Затем приливают 150 мл этилового спирта и 150 мл глицерина. Величину рН смеси доводят до $2,5 - 2,8$ конц. HCl . Раствор оставляют на 48 часов и в случае появления осадка фильтруют через фильтр «синяя лента». Срок хранения 2 месяца .

13. Исходный стандартный раствор: безводный K_2SO_4 мелко растирают и сушат при $t^\circ = 120 - 150^\circ \text{C}$ в течение 2 часов . Навеску $0,2720 \text{ г}$ растворяют в 100 мл воды. Этот раствор соответствует содержанию SO_2 1000 мкг/мл .

14. Рабочий стандартный раствор. Готовят 10-кратным разбавлением исходного стандартного раствора поглотительным раствором. Полученный раствор соответствует содержанию SO_2 100 мкг/мл.

Ход анализа

Для определения разовой концентрации исследуемый воздух со скоростью 4 л/мин протягивают в течение 20 минут через поглотительный прибор Рыхтера, содержащий 6 мл поглотительного раствора. Для очистки воздуха от аэрозолей сульфатов и серной кислоты, мешающих определению, перед поглотительным прибором помещают пластмассовый фильтродержатель с фильтром АФА, присоединенный встык. Металлический фильтродержатель применять нельзя.

В лаборатории уровень раствора в поглотительном приборе доводят до 6 мл дистиллированной водой. Для анализа 5 мл раствора пробы переносят в пробирку и добавляют 5 мл раствора BaCl_2 . Содержимое пробирки тщательно встряхивают и через 15 минут определяют оптическую плотность раствора в кювете толщиной 10 мм при длине волны 400 нм относительно «нулевой пробы» (холостая проба). Время от добавления последнего реактива до измерения оптической плотности для всех проб должно быть одинаковым. Одновременно проводят измерение «нулевой пробы», для чего 5 мл поглотительного раствора анализируют аналогично пробам. Оптическая плотность «нулевой пробы» не должна быть более 0,01. Если она превышает это значение, необходимо проверить чистоту посуды и измерительных кювет и качество приготовленных растворов и реактивов. Количество SO_2 в пробах находят с помощью калибровочного графика по разности результатов измерений оптической плотности раствора пробы и нулевого раствора. Анализ проб можно проводить визуально.

Для построения калибровочного графика готовят серию стандартных растворов в мерных колбах емкостью 100 мл согласно таблице 2.5. В качестве стандартного раствора применяют раствор безводного сульфата калия, содержащего 100 мкг в 1 мл.

Таблица 2.5

Приготовление градуировочных растворов для определения диоксида серы

Раствор	Номер стандартного раствора							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Рабочий стандартный раствор SO_2 (100 мкг/мл), мл	1	2	4	6	8	12	16	20
Поглотительный раствор, мл	До 100 мл в каждую колбу							
Содержание SO_2 в 5 мл стандартного раствора, мкг	5	10	20	30	40	60	80	100

Для приготовления шкалы стандартов отбирают в пробирки по 5 мл каждого стандарта и проводят операции согласно ходу анализа. Одновременно проводят измерения оптической плотности нулевой пробы.

Калибровочный график строят по средним значениям, вычисленным из результатов 3–5 шкал с применением метода наименьших квадратов.

Расчет

Концентрацию SO_2 в воздухе (С) в мг/м^3 определяют по формуле (2.21):

$$C = \frac{m \cdot \sigma}{5 \cdot V_0}, \quad (2.21)$$

где m – масса вещества, найденная в анализируемом объеме пробы, мг; σ – общий объем пробы, мл; 5 – объем пробы, взятый для анализа, мл; V_0 – объем аспирированного воздуха, приведенный к нормальным условиям.

Лабораторная работа № 7. Определение оксидов азота в атмосфере фотоколориметрическим методом

Азот образует смесь различных оксидов, но лишь NO и NO_2 имеют значение как атмосферные загрязнители. Обычно суммарные концентрации NO и NO_2 обозначаются как NO_x . Оксиды азота играют основную роль в образовании фотохимического «смога», влияют они и на разрушение озонового слоя, ведут к образованию кислых дождей. Загрязнение атмосферы оксидами азота в целом сравнительно не велико, но в районах с развитой химической промышленностью имеются локальные зоны повышенного содержания NO_x в воздухе.

NO – бесцветный газ, образующийся в цилиндрах двигателей внутреннего сгорания при взаимодействии O_2 с N_2 . В дальнейшем он окисляется до NO_2 .

NO_2 – коричнево-бурый газ, ядовитый с неприятным запахом. При растворении NO_2 в воде образуется HNO_3 .

Образование NO_x в процессах сжигания связано с окислением атмосферного азота и, в меньшей степени, с окислением органических соединений азота, содержащихся в топливе. С повышением температуры количество NO_x значительно увеличивается. Другим антропогенным источником является производство HNO_3 . Энергетика и транспорт выбрасывают в атмосферу 36 % всех выбросов азота. Оксиды азота образуются в природе и как результат превращений органического азота.

Газообразный NO_2 токсичен (2 класс опасности), является сильным коррозионным агентом. Предельно допустимая концентрация максимально разовая составляет $0,2 \text{ мг/м}^3$ – среднесуточная – $0,04 \text{ мг/м}^3$.

Метод определения содержания NO_2 в воздухе с реактивом Грисса–Илосвая основан на взаимодействии NO_2 и сульфаниловой кислоты с образованием диазосоединения, которое, реагируя с α -нафтиламином, дает азокраситель. Последний окрашивает раствор от бледно-розового до красно-фиолетового цвета. По интенсивности окраски раствора определяют количество NO_2 . Озон, не превышающий концентрацию NO_2 в 3 раза, не мешает определению. Чувствительность метода определения 0,1 мкг в анализируемом объеме пробы. Диапазон измеряемых концентраций составляет 0,03 – 0,64 кг/м³ при отборе пробы воздуха 5 л.

Оборудование и материалы

1. Улавливающее устройство: аспиратор для отбора проб, поглоительный прибор Рыхтера.

2. Аналитические весы.

3. Барометр.

4. Термометр.

5. Фотоколориметр.

6. Калий йодистый (х.ч.).

7. Натрий азотистокислый, х.ч.

8. Поглоительный раствор: 20 г KI растворяют в 250 мл воды. Полученный раствор должен быть бесцветным и хранится в банке из темного стекла. Срок хранения 2 недели.

9. Натрий сернистокислый, х.ч. 0,06% раствор: 0,03 г Na_2SO_3 растворяют в 50 мл воды.

10. Уксусная кислота, х.ч. 12% раствор: 64 мл концентрированной кислоты помещают в мерную посуду на 500 мл и доводят до метки водой.

11. Сульфаниловая кислота, ч.д.а. 5 г сульфаниловой кислоты растворяют в 150 мл 12%-го раствора уксусной кислоты. Хранят раствор в плотно закрытой склянке.

12. α -нафтиламин растворяют в 20 мл воды при нагревании на водяной бане с образованием лиловых капель на дне колбы. Раствор осторожно сливают в темную склянку, оставляя осадок в колбе, и приливают к раствору 150 мл 12% раствора уксусной кислоты.

13. Составной реактив (реактив Грисса–Илосвая). Перед анализом смешивают раствор α -нафтиламина и сульфаниловой кислоты в отношении 1:1.

14. Исходный стандартный раствор: 2–3 г растворяют и сушат при $t = 50 - 60^\circ\text{C}$ в течение 2 часов. Навеску NaNO_2 0,1500 г растворяют в мерной колбе емкостью 100 мл. 1 мл полученного раствора соответствует 1000 мкг NO_2 .

15. Раствор, 1 мл которого соответствует 10 мкг NO_2 , готовят разведением стандартного раствора поглоительным раствором в 100 раз.

16. Рабочий стандартный раствор готовят десятикратным разбавлением раствора, содержащего 10 мкг/мл NO_2 , поглотительным раствором. 1 мл рабочего раствора соответствует 1 мкг NO_2 . Исходный стандартный раствор сохраняется в течение 2 недель в склянке из темного стекла.

Ход анализа

Для определения разовой концентрации NO_2 исследуемый воздух протягивают через поглотитель Рыхтера, наполненный 6 мл поглотительного раствора, со скоростью 0,25 л/мин.

Во время отбора пробы следует избегать освещения поглотительного прибора солнечными лучами. Срок хранения отобранных проб не более 2 суток.

В лаборатории уровень раствора в поглотительном приборе доводят до метки 6 мл дистиллированной водой. Для анализа 5 мл раствора из каждой пробы переносят в пробирку и добавляют по 0,5 мл составного реактива.

Содержимое пробирок тщательно встряхивают и через 20 мин (непосредственно перед измерением) в пробирки приливают по 5 капель 0,06%-го раствора Na_2SO_3 и еще раз встряхивают. Оптическую плотность измеряют в кюветах толщиной 10 мм при длине волны 540 нм относительно дистиллированной воды. Время от добавления составного реактива до измерения оптической плотности всех проб должно быть одинаковым. Количество NO_2 в пробах находят по калибровочному графику.

Для построения калибровочного графика готовят серию стандартных растворов в мерных колбах емкостью 50 мл согласно табл. 2.6.

В качестве стандартного раствора применяют раствор NaNO_2 , в 1 мл которого содержится 1 мкг NO_2 .

Для приготовления шкалы стандартов отбирают в пробирки по 5 мл каждого стандартного раствора и проводят все операции согласно ходу анализа. Калибровочный график строят по методу наименьших квадратов.

Таблица 2.6

Приготовление градуировочных растворов для определения оксидов азота

Раствор	Номер стандартного раствора						
	1	2	3	4	5	6	7
Рабочий стандартный (1 мкг/мл), мл	1	2	4	6	8	10	20
Поглотительный, мл	До 50 мл в каждую колбу						
Содержание NO_2 в 5 мл стандартного раствора	0,1	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	2,0

Расчет

Концентрацию NO₂ в воздухе (С) в мг/м³ определяют по формуле (2.22):

$$C = \frac{m \cdot \sigma}{5 \cdot V_0}, \quad (2.22)$$

где С – концентрация NO₂, мг/м³; σ – общий объем пробы, мл; 5 – объем пробы, взятый для анализа; V₀ – объем аспирированного воздуха, приведенный к нормальным условиям.

Лабораторная работа № 8. Очистка воздуха от диоксида углерода методом абсорбции

Абсорбцией называют процесс поглощения газов или паров из газовых или парогазовых смесей жидкими поглотителями – абсорбентами.

Физическая абсорбция сопровождается растворением поглощаемого газа без химического взаимодействия с абсорбентом. Если поглощенное вещество образует с абсорбентом химическое соединение, то такой процесс называют **хемосорбцией**.

Физическая абсорбция в большинстве случаев обратима, что позволяет выделить поглощенное вещество из поглотителя и повторно его использовать. Процесс выделения вещества из поглотителя называется **десорбцией**.

В промышленности процессы абсорбции применяют для извлечения из газовых смесей различных компонентов. Кроме того, абсорбция применяется для очистки от вредных примесей газовых потоков, выбрасываемых в атмосферу.

Растворимость извлекаемых из газовых смесей компонентов зависит от свойств газа и поглотителя, состава газовой смеси, давления и температуры. Растворимость газа в жидкости увеличивается с повышением давления и снижением температуры.

Абсорбция - массообменный процесс, поэтому движущей силой является разность концентраций поглощаемого вещества в газовой и жидкой фазах. Важное значение для очистки газовых выбросов имеет абсорбция, сопровождающаяся химической реакцией. Если реакция протекает в жидкой фазе, то часть поглощаемого вещества переходит в связанное состояние. При этом концентрация свободного компонента в жидкости меньше, чем при физической абсорбции. Следовательно, увеличивается разность концентраций вещества в газовой и жидкой фазах, т.е. движущая сила процесса, что приводит к ускорению абсорбции.

Аппараты для проведения абсорбционных процессов называются **абсорберами**.

Широкое распространение в промышленности получили насадочные абсорберы, которые представляют собой колонны, заполненные насадкой – твердыми телами различной формы.

Абсорбент стекает по насадке вниз тонкой жидкой пленкой, образуя поверхность контакта с газом, который поднимается вверх по каналам между элементами насадки.

Целью работы является изучение абсорбционного метода по очистке воздуха от диоксида углерода.

Описание установки и перечень оборудования

Установка (рис. 2.5) состоит из стеклянного абсорбера 4, заполненного насадкой 5.

При недостаточной концентрации диоксида углерода в воздухе его содержание может быть увеличено, например, при взаимодействии мела и раствора любой кислоты, которые помещаются в коническую колбу 7.

Абсорбент поступает в абсорбер из сосуда Мариотта 11, стекает по насадке и собирается в колбе 6. Конец трубки в колбе должен находиться под уровнем жидкости для того, чтобы предотвратить подсос воздуха. В качестве поглотителя используется 5–10%-й водный раствор карбоната натрия. Очищенный от диоксида углерода воздух отводится из абсорбера через трехходовой кран 3 и штуцер 2, который соединяется с побудителем тяги, например водоструйным насосом. Штуцера 1 и 10 служат для отбора проб воздуха на анализ [Руководство к практическим..., 2014].

Ход анализа

Включают побудитель тяги, например водоструйный насос. Пробки кранов 3 и 9 устанавливают в положение, представленное на рис. 2.5, а. Раствор карбоната натрия заливают в сосуд Мариотта и закрывают его пробкой со стеклянной трубкой. Открывая зажим 12 на линии подачи абсорбента, устанавливают расход жидкости 50–60 капель в минуту.

Через 5–10 мин после начала работы установки пробки кранов 3 и 9 устанавливают в положения, показанные на рисунке 2.5, б.

Отбирают пробы воздуха до и после абсорбера, подсоединяя индикаторные трубки к штуцерам 1 и 10.

Закрывают подачу поглотителя и выключают побудитель тяги.

Контроль концентраций диоксида углерода

По длине слоя сорбента в индикаторной трубке, изменившего окраску, и контрольной шкале определяют концентрацию диоксида углерода в воздухе до и после абсорбера [Руководство к практическим..., 2014].

Методика определения концентраций диоксида углерода с помощью индикаторных трубок

Оборудование

1. Индикаторные трубки для определения углекислого газа.
2. Насос-пробоотборник.

Методика проведения работы

Перед началом работы внимательно прочитайте инструкцию по применению индикаторных трубок и насоса.

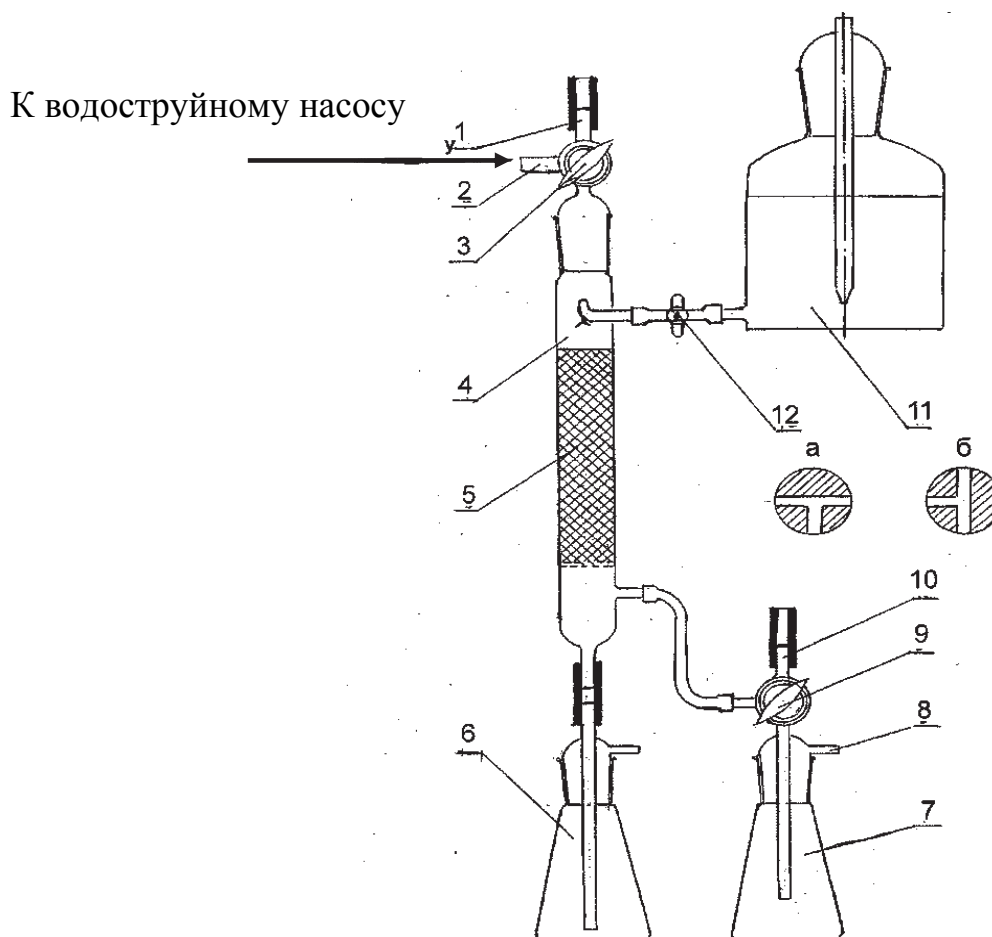


Рис. 2.5. Абсорбционная установка: очищаемый воздух из помещения поступает в абсорбер через штуцер 8 и трехходовой кран 9. 1, 10 – штуцера для отбора проб воздуха; 2 – штуцер для подсоединения водоструйного насоса; 3, 9 – трехходовые краны; 4 – абсорбер; 5 – насадка (кольца Рашига); 6, 7 – колбы конические на 100 мл; 8 – штуцер для подвода очищаемого воздуха; 11 – сосуд Мариотта; 12 – зажим

Соблюдайте осторожность при вскрытии индикаторной трубки во избежание порезов осколками стекла!

1. Вскройте индикаторную трубку на CO_2 с обоих концов, используя отверстие в головке насоса. Обратите внимание на первоначальный цвет наполнителя индикаторных трубок.

2. Подсоедините индикаторную трубку со стороны выхода воздуха к насосу и к штуцеру 1 (10) для отбора пробы воздуха.

3. Сделайте 3 полных прокачивания насосом, просасывая через индикаторную трубку воздух. Продолжительность каждого цикла прокачивания должна быть около 1 мин.

4. Отметьте изменение окраски наполнителя и длину прореагировавшего столбика наполнителя после прокачивания. Расположите индикаторную трубку рядом со шкалой, изображенной на этикетке, и определите величину концентрации углекислого газа (C) в мг/м^3 по границе столбика, изменившего окраску.

5. При необходимости пересчитайте концентрацию CO_2 из мг/м^3 в объемные % по формуле (2.23)

$$C_1 = \frac{C_2 \cdot 10^{-4} \cdot 22,4}{M}, \quad (2.23)$$

где C_1 – концентрация газа в объемных %; C_2 – концентрация газа в мг/м^3 ; M – молярная масса углекислого газа ($M = 44$).

Оценка эффективности очистки

Рассчитывают эффективность (η) очистки воздуха по формуле (2.24)

$$\eta = 1 - \frac{C_{\text{к}}}{C_{\text{н}}}, \quad (2.24)$$

где $C_{\text{н}}$ и $C_{\text{к}}$ – концентрации диоксида углерода в воздухе до и после очистки.

Лабораторная работа № 9. Очистка воздуха от диоксида углерода методом адсорбции

Адсорбцией называют процесс поглощения одного или нескольких компонентов из газовой смеси твердым веществом – адсорбентом.

Процессы адсорбции широко применяются в промышленности для очистки и осушки газов, разделения смесей газов и паров, извлечения паров органических веществ из смеси с воздухом. Адсорбция часто используется для очистки газовых потоков, выбрасываемых в атмосферу, с целью уменьшения загрязнения вредными примесями окружающей среды.

Процессы адсорбции избирательны и обычно обратимы. Благодаря обратимости становится возможным выделение адсорбированного вещества и восстановление поглотительных свойств адсорбента. Этот процесс называют **десорбцией**.

Аппараты для проведения процесса адсорбции называются **адсорберами**.

Различают физическую и химическую адсорбцию. **Физическая адсорбция** обусловлена взаимным притяжением молекул поглощаемого вещества и адсорбента и не сопровождается химическим взаимодей-

ствием. При **химической адсорбции** молекулы поглощаемого вещества вступают в химическую реакцию с молекулами на поверхности поглотителя. Такой процесс адсорбции необратим.

В качестве адсорбентов используются пористые твердые вещества. Эффективность адсорбента зависит от поверхности пор и, главным образом, от наличия микропор, размеры которых составляют $2 \cdot 10^{-6} - 6 \cdot 10^{-6}$ мм.

В промышленности в качестве поглотителей применяют активные угли, а также минеральные адсорбенты.

Активные угли получают путем сухой перегонки углеродосодержащих веществ, например древесины. Полученный уголь для повышения пористости, а значит и активности, активируют прокаливанием при температуре $800-900^{\circ}\text{C}$. Удельная поверхность пор $600-1700 \text{ м}^2/\text{г}$. Активные угли поглощают пары органических веществ, поэтому часто используются для очистки вентиляционных выбросов, а также в противогазах. Недостатками активного угля является его горючесть и непрочность.

Силикагель представляет собой продукт обезвоживания геля кремневой кислоты. Удельная поверхность пор изменяется от 400 до $700 \text{ м}^2/\text{г}$. Силикагель применяется главным для осушки газов.

Цеолиты представляют собой природные и синтетические минералы. Цеолиты обладают высокой поглотительной способностью к воде и являются высокоэффективными адсорбентами для осушки и очистки газов.

Целью работы является изучение адсорбционного метода по очистке воздуха от диоксида углерода.

Оборудование

Адсорбционная установка (рис. 2.6) состоит из стеклянного адсорбера 4, заполненного твердым поглотителем – цеолитом 5. Очищаемый воздух из помещения поступает в адсорбер через штуцер 7 и коническую колбу 6. При недостаточной концентрации диоксида углерода в воздухе его содержание может быть увеличено, например, при взаимодействии мела и раствора любой кислоты, которые помещаются в коническую колбу 6.

Очищенный от диоксида углерода воздух отводится из адсорбера через кран 3 и штуцер 2, который соединяется шлангом с побудителем тяги, например водоструйным насосом. Через штуцера 9 и 1 отбираются пробы воздуха для определения концентрации диоксида углерода до и после адсорбера. На штуцерах имеются короткие резиновые шланги для подсоединения индикаторных трубок.

Содержание диоксида углерода определяется при помощи индикаторных трубок по методике, прилагаемой к комплекту трубок [Муравьев А.Г., 2004].

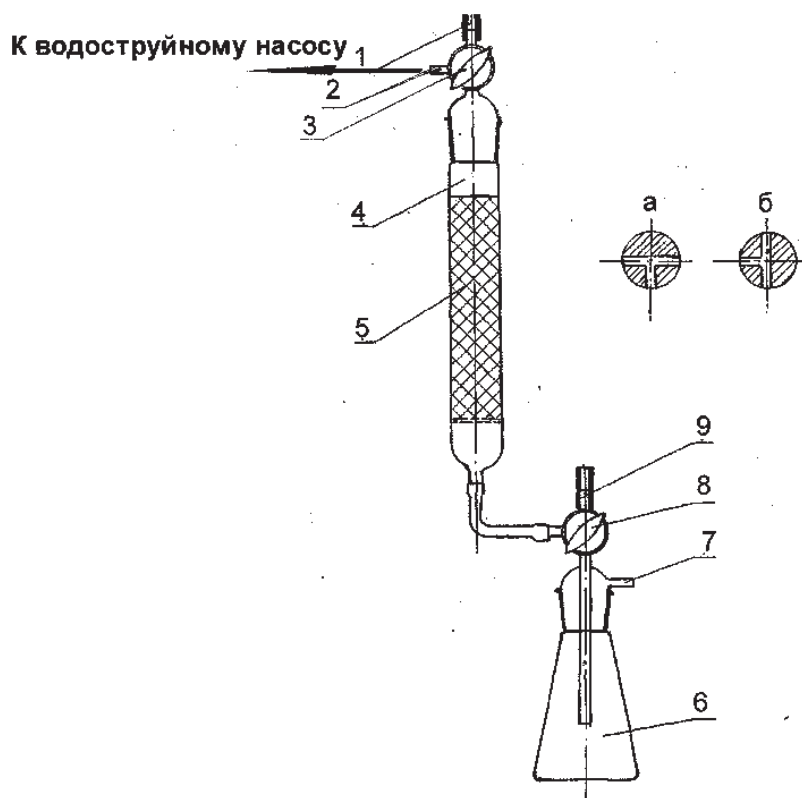


Рис. 2.6. Адсорбционная установка: 1, 9 – штуцера для отбора проб воздуха; 2 – штуцер для подсоединения водоструйного насоса; 3, 8 – трехходовые краны; 4 – адсорбер; 5 – поглотитель; 6 – колба коническая на 100 мл; 7 – штуцер для подвода, очищаемого воздуха.

Ход анализа

Включают побудитель тяги, например водоструйный насос. Пробки кранов 3 и 8 устанавливают в положение, показанное на рис. 2.6, а. Через 5–10 мин после начала работы установки пробки кранов 3 и 8 переводят в положение, представленное на рис. 2.6, б.

Отбирают пробы воздуха до и после адсорбера, присоединяя индикаторные трубки к штуцеру 9 и 1. Отключают побудитель тяги.

Контроль концентраций диоксида углерода.

По длине слоя сорбента в индикаторной трубке, изменившего окраску, и контрольной шкале определяют концентрацию диоксида углерода в воздухе до и после адсорбера (аналогично работе № 8).

Оценка эффективности очистки

Рассчитывают эффективность (η) очистки воздуха по формуле (2.25):

$$\eta = 1 - \frac{C_K}{C_H}, \quad (2.25)$$

где C_H и C_K – концентрации диоксида углерода в воздухе до и после очистки.

Примечание. Типовой комплект оборудования «Экология и охрана окружающей среды» ЭОС-2, в состав которой входят работы № 8 и 9, а также насос-пробоотборник (аспиратор) воздуха, производится ЗАО «Крисмас+» (г. С.-Петербург).

Лабораторная работа № 10. Экспрессное определение оксида углерода на рабочем месте сварщика

Концентрацию вредных веществ в воздухе производственных предприятий во многих случаях можно быстро установить экспрессным методом с помощью индикаторных трубок. Индикаторная трубка представляет собой герметическую стеклянную трубку, заполненную твердым носителем, обработанным активным реагентом. В качестве носителей реактивов применяют различные порошкообразные материалы: силикагель, оксид алюминия, фарфор, стекло и другие.

Анализируемый воздух аспирируют через индикаторные трубки с помощью сильфонных или поршневых насосов, которыми оснащены газоопределители ГХ и АМ-5Е. Определение основано на линейно-колориметрическом методе. Сущность метода заключается в изменении окраски индикаторного порошка в результате реакции с вредным веществом, находящимся в анализируемом воздухе, пропускаемом через трубку. Длина изменившего первоначальную окраску слоя индикаторного порошка пропорциональна концентрации вредного вещества. Концентрацию его измеряют по градуированной шкале, нанесенной на трубку или прилагаемой отдельно. Некоторые индикаторные трубки используют совместно со вспомогательными трубками: окислительными, осушительными и фильтрующими.

Газоанализатор универсальный переносной АМ-5Е предназначен для измерения концентраций вредных газов и паров в воздухе рабочей зоны производственных помещений. Условия эксплуатации: температура окружающей среды от 10 до 30 °С, относительная влажность воздуха не более 90 %, атмосферное давление от 680 до 780 мм рт.ст., массовая доля пыли не более 40 мг/м³. Основная относительная погрешность результатов измерения составляет: до 1 ПДК не превышает ± 60 %, в интервале от 1 до 2 ПДК ± 35 %, свыше 2 ПДК ± 25 %.

Газоанализатор состоит из воздухозаборного устройства, измерительных шкал, штока, образцов индикаторных трубок и фильтрующих патронов, запаянных ампул с индикаторными порошками и набора других принадлежностей, необходимых для приготовления индикаторных трубок и фильтрующих патронов. Основной частью воздухозаборного устройства является резиновый сильфон с расположенной внутри стакана сжатой пружиной, которая удерживает сильфон в растянутом состоянии. Исследу-

емый воздух пропускается через индикаторную трубку после предварительного сжатия сильфона штоком. На гранях штока (под головкой) обозначены объемы пропускаемого воздуха. На цилиндрической поверхности штока имеются четыре продольные канавки, каждая с углублениями, служащими для фиксации фиксатором объема пропускаемого воздуха. Расстояние между углублениями на канавках подобрано так, чтобы при ходе штока от одного углубления до другого сильфон забирал необходимый для анализа данного газа объем исследуемого воздуха. Принцип действия воздухозаборного устройства основан на использовании разряжения, возникающего в резиновом сильфоне при растягивании его сжатой пружиной. В комплект входят также комплекты индикаторных средств (КИС).

КИС АМ-5Е на оксид углерода предназначен для измерения концентрации СО в пределах от 5 до 120 мг/м³. Для улавливания мешающих примесей применяют фильтрующий патрон. Индикаторный порошок состоит из активного силикагеля, пропитанного индикаторным раствором, содержащим КJ и H₂SO₄. Индикаторный порошок белого цвета после воздействия СО окрашивается в коричневый цвет. Фильтрующий патрон (с тремя метками) заполняется через широкий конец сначала поглотителем N 4 до первой метки (силикагель, пропитанный раствором CrO₂ в H₂SO₄). Затем до второй метки засыпается поглотитель № 6, состоящий из силикагеля, пропитанного раствором из оксида ртути и серной кислоты. В конце засыпается поглотитель № 7 – активный уголь КАД. Вкладывается тампон из ваты и уплотняется до 4–5 мм, так же как и перед заполнением патрона.

Подготовка к измерению

В лаборатории изготавливаются индикаторные трубки и фильтрующие патроны. Перед изготовлением стеклянные индикаторные трубки моют хромовой смесью, водой, сушат при 120–130° С и хранят в эксикаторе. В один конец трубки вставляют стержень, в противоположный конец трубки вкладывают тампон из ваты и штырек, уплотняют вату с помощью стержня до 2–3 мм. Вынимают стержень и через воронку в индикаторную трубку засыпают индикаторный порошок из ампулы, вскрытой перед употреблением. Ампулу с оставшимся порошком сразу же закрывают заглушкой с резиновой трубкой. Постукивая по стенке трубки, удерживаемой вертикально, стержнем уплотняют столбик порошка и вкладывают второй тампон толщиной 2–3 мм. Длину столбика контролируют длиной стержня до нанесенной на нем отметки. Недостаточное уплотнение приводит к увеличению длины окрашенного столбика и размытию его границ. Правильность уплотнения порошка в трубке контролируют продолжительностью хода штока до защелкивания. Индикаторные трубки герметизируют.

Проверяют герметичность воздухозаборного устройства. Для этого сжимают сильфон штоком до верхнего отверстия на объеме 400 мл и фикс-

сируют фиксатором. Резиновую трубку перегибают, отводят фиксатор и после первоначального рывка его отпускают. Если за время 100 ± 2 мин не наблюдается заметного перемещения штока, устройство герметично.

Ход анализа

Перед анализом индикаторные трубки выдерживают 30 мин для принятия температуры окружающей среды, фильтрующий патрон присоединяют с помощью резиновой трубки к индикаторной трубке узким концом встык. Индикаторные трубки освобождают от герметизирующих колпачков. Постукивая стержнем о стенки трубки, проверяют ее уплотнение, и если при этом между столбиком порошка и тампоном образовался просвет, то его устраняют нажатием стержня на тампон.

Измерение проводят не позднее 1 мин после разгерметизации трубок. Надавливая одной рукой на головку штока, другой отводят фиксатор. Как только шток начинает двигаться, фиксатор отпускают и включают секундомер. Когда фиксатор входит в нижнее углубление канавки штока, слышен щелчок, но воздух продолжает поступать. При пропускании заданного объема воздуха продолжительность хода штока должна укладываться в пределы, указанные на этикетке измерительной шкалы.

Концентрацию газа (пара) находят, совмещая нижнюю границу столбика, окрашенного порошка индикаторной трубки с нулевой отметкой измерительной шкалы. Цифра на шкале, совпадающая с верхней границей окрашенного столбика, указывает концентрацию определяемого газа (пара). При размытости границы раздела окрашенного слоя отсчет концентрации проводят по нижней и верхней частям границы. За результат измерения принимают среднее значение показателей шкалы.

После окончания работы отсоединяют от индикаторной трубки патрон, немедленно закрывают заглушками и укладывают на хранение в эксикатор с CaCl_2 . Выполняют не менее 5 замеров на одном рабочем месте. За конечный результат измерения принимают среднее арифметическое значение и приводят его к нормальным условиям. Для перезарядки отработанных индикаторных трубок с помощью стержня извлекают тампон и высыпают использованный порошок. Трубки моют и сушат для повторного исследования.

2.6. Оценка качества природных и сточных вод

Водные ресурсы определяют социально-экономическую устойчивость и направление развития страны. Благополучие и безопасность государства во многом определяется водохозяйственной и экологической безопасностью, уровнем водообеспеченности населения качественной питьевой водой, водоснабжением отраслей экономики, достоверностью и опера-

тивностью прогнозирования чрезвычайных ситуаций на водных объектах, их своевременным предотвращением и минимизацией наносимого ущерба.

Распределение пресной воды по земному шару неравномерно. В Европе и Азии, где проживает 70 % населения мира, сосредоточено лишь 39 % ее запасов [Данилов-Данильян В.И., 2008]. Во многих странах и регионах мира уже сегодня ощущается недостаток водных ресурсов, усиливающийся с каждым годом. Тенденция к утрате водными ресурсами свойства воспроизводимости, очевидно, тесно связана с общим экологическим неблагополучием на планете и его непрерывным усилением [Харитонов Г.Б., 2008].

Основой водных ресурсов Российской Федерации является речной сток, образованный более 2,7 млн рек и ручьёв, общая протяженность которых составляет около 8 млн км. Занимая 12,6 % территории Земли, Россия отличается хорошо развитой речной сетью, а также уникальным водным побережьем, имеющим протяженность порядка 60 тыс. км [Государственный доклад, 2009].

Поверхностные воды в большей степени подвержены антропогенному вмешательству. Любой вид хозяйственной деятельности человека, проводимой в значительных масштабах в речных бассейнах, долинах и руслах рек, означает существенные изменения в их водном режиме.

Наиболее распространенными загрязняющими веществами поверхностных вод являются нефтепродукты, соединения металлов, аммонийный и нитритный азот, а также специфические загрязняющие вещества.

Лабораторная работа № 11. Титриметрическое определение кальция в природных водах

Кальций – довольно распространенный ион природных вод, а в пресных водах – главнейший наряду с гидрокарбонат-ионом.

В соленых водах кальций встречается преимущественно в виде сульфатов и хлоридов [Никаноров А.М., 2001].

Принцип трилометрического метода определения кальция основан на применении трилона Б в присутствии индикатора мурексида.

В присутствии ионов кальция раствор мурексида окрашивается в красный цвет за счет образующегося пурпурата кальция – $\text{Ca}(\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_6\text{N}_5)_2$. (С ионами магния пурпурная кислота не реагирует). Пурпурат кальция – соединение нестойкое. При титровании такого раствора трилоном Б образуется прочное соединение кальция с трилоном Б, а ионы пурпурной кислоты освобождаются и окрашивают раствор в лиловый цвет. Раствор титруют до появления четко выраженной лиловой окраски от первой капли раствора трилона Б (эквивалентная точка). При дальнейшем добавлении трилона Б в пробу окраска раствора не меняется.

Чувствительность метода 1 мг/л (0,06 мг-экв/л), точность (допустимые расхождения) 3 мг/л, если содержание Ca^{+2} не превышает 100 мг/л; при более высоких концентрациях – 9 % относительных.

Выполнение работы возможно с применением тест-комплектов, готовых компонентов и принадлежностей производства ЗАО «Крисмас+». Подробная информация представлена в приложении.

Оборудование и материалы

1. Бюретка.
2. Пипетки на 5 и 10 мл.
3. Мерный цилиндр 100 мл.
4. Пипетка медицинская.
5. Колба коническая на 250 мл.
6. 0,05 н раствор трилона Б.
7. 0,05 н раствор MgSO_4 .
8. Аммиачный буферный раствор ($\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$).
9. Водный раствор мурексида (индикатор).
10. Хромоген черный (индикатор).
11. 10%-й раствор щелочи NaOH .

Ход анализа

Определение нормальности трилона Б¹

Поправочный коэффициент к нормальности трилона Б (0,05н) находят по точному 0,05 н раствору MgSO_4 при pH ~ 10 (создается аммиачным буферным раствором) в присутствии индикатора хромогена черного (ЕТ - 00).

В коническую колбу отмеряют пипеткой 15 мл 0,05 н раствора MgSO_4 , добавляют 85 мл дистиллированной воды, приливают 5 мл аммиачного буферного раствора и 5 капель индикатора хромогена черного, после чего проводят титрование раствором трилона Б (0,05 н). Пробу титруют до появления голубой окраски от одной прилитой капли трилона Б. Дальнейшее прибавление трилона Б не изменяет голубой окраски раствора, поэтому титрование следует проводить аккуратно, внимательно наблюдая за постепенным изменением окраски от винно-красной через переходные окраски (фиолетовую, грязно-синюю) до голубой.

Титрование проводят дважды, расхождение результатов не должно превышать 0,5 мл, в противном случае титрование повторяют еще раз, и результаты определения усредняют.

¹ Нормальная концентрация («нормальность») – количество эквивалентов данного вещества в 1 литре смеси. Нормальную концентрацию выражают в моль-экв/л или г-экв/л (имеется в виду моль эквивалентов). Для записи концентрации таких растворов используют сокращения «н» или «N». Эта единица концентрации редко, но используется в настоящее время. Актуальные единицы концентрации приведены в литературе [Руководство по анализу воды, 2018; Химический анализ..., 2015]

По результатам двух титрований рассчитывают поправочный коэффициент к нормальности трилона Б по формуле (2.26)

$$K = \frac{n_{(\text{мл})} \text{MgSO}_4}{n_{(\text{сред})} \text{ трилон Б}} . \quad (2.26)$$

Определение кальция в пробе. В коническую колбу емкостью 250 мл отмеряют цилиндром 100 мл исследуемой пробы. Приливают 5 мл 10%-го раствора NaOH и 20 капель водного раствора мурексида. Раствор при этом окрашивается в красный цвет. Пробу титруют трилоном Б при энергичном перемешивании до появления лиловой окраски, устойчивой в течение 3–5 мин. При дальнейшем прибавлении трилона Б окраска не меняется. В качестве «свидетеля» можно использовать перетитрованную пробу, но следует помнить, что оттитрованная проба сохраняет устойчивую лиловую окраску сравнительно недолго. Определение повторяют и берут средний результат.

Расчет

Содержание ионов кальция в исследуемой пробе производится по следующей формуле (2.27):

$$\text{Ca}^{2+} = \frac{n_{\text{сред}} \cdot N \cdot K \cdot 1000}{V} \left(\text{мг} - \frac{\text{ЭКВ}}{\text{л}} \right), \quad (2.27)$$

где $n_{\text{сред}}$ – количество трилона Б, израсходованного на титрование, мл (по среднему результату двух проб); N – нормальность раствора трилона Б (0,05 н); K – поправочный коэффициент к нормальности трилона Б; V – объем пробы, мл.

Пересчет содержания кальция из «мг-экв/л» в «мг/л» производят умножением на эквивалентный вес кальция, равный 20,04.

Полученную фактическую концентрацию катиона кальция сравнить с соответствующими нормативами, используя приложение 1. Сделать вывод.

Лабораторная работа № 12. Количественное определение магния в водах расчетным методом

Для определения количества магния в исследуемой воде необходимо знать величину общей жесткости и кальциевой жесткости, выраженных в мг-экв/л. По разности этих величин узнают количество мг-экв/л, соответствующее содержанию Mg^{2+} , или вычисляют по формуле (2.28):

$$\text{Mg}^{2+} = (H_{\text{общ}} - \text{Ca}^{2+}) (\text{мг} - \text{экв/л}), \quad (2.28)$$

где $H_{\text{общ}}$ – общая жесткость, мг-экв/л; Ca^{2+} – количество Ca^{2+} -ионов, мг-экв/л.

Пересчет содержания магния из «мг-экв/л» в «мг/л» производят умножением на эквивалентный вес магния, равный 12,16. Полученную фактическую концентрацию катиона магния и значение общей жесткости сравнить с соответствующими нормативами, используя приложение 1. Сделать выводы.

Определение общей жесткости

Общая жесткость – свойство воды, обусловленное наличием в ней двухвалентных катионов (главным образом кальция и магния). Жесткость является важной технической характеристикой воды, так как определяет пригодность ее для различных целей: для промышленности, сельского хозяйства, хозяйственно-бытовых нужд.

Жесткость выражается в мг-экв/л или ммоль/л. Различают следующие виды жесткости:

1. Общая жесткость (Нобщ) – суммарное содержание ионов кальция и магния.

2. Устранимая, или временная, (Нвр) и карбонатная (Нк) жесткости обусловлены наличием бикарбонатов (и карбонатов) кальция и магния.

3. Неустраиваемая, постоянная, (Нпост) и некарбонатная (Ннк) жесткости обусловлены хлористыми, сернокислыми и другими некарбонатными солями кальция и магния.

Для определения общей жесткости пользуются объемным трилонометрическим методом, который относится к числу комплексометрических.

Определение суммарного содержания ионов кальция и магния основано на способности трилона Б образовывать прочные комплексные соединения в щелочной среде с этими ионами, замещая свободные ионы водорода на катионы Ca^{+2} и Mg^{+2} .

В качестве индикатора используется хромоген черный, дающий с магнием соединение винно-красного цвета, при исчезновении ионов магния он приобретает голубую окраску. Реакция идет при $\text{pH} \sim 10$, что достигается добавлением в пробу аммиачного буферного раствора ($\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$).

При титровании пробы воды, содержащей ионы Ca^{+2} и Mg^{+2} , трилоном Б в первую очередь связываются ионы кальция, а затем магния. При исчезновении ионов магния окраска раствора меняется на голубую, что свидетельствует об окончании титрования (эквивалентная точка) [Строганов Н.С., 1980].

Чувствительность трилонометрического метода составляет 0,2 мг-экв/л, допустимые расхождения (точность) 0,2 мг-экв/л при общей жесткости до 10 мг-экв/л.

Выполнение работы возможно с применением тест-комплектов, готовых компонентов и принадлежностей производства ЗАО «Крисмас+». Подробная информация представлена в приложении.

Оборудование и материалы

1. Бюретка.
2. Пипетки на 5 и 10 мл.
3. Колба коническая на 250 мл.
4. Пипетка медицинская.
5. Мерный цилиндр 100 мл.
6. Раствор трилона Б 0,05 н.
7. Раствор MgSO_4 0,05 н.
8. Аммиачный буферный раствор ($\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$).
9. Индикатор хромоген черный.

Ход анализа

Определение нормальности трилона Б производится по стандартному 0,05 н раствору сернокислого магния MgSO_4 (смотреть работу № 11).

Определение общей жесткости пробы. Мерным цилиндром отмеряют 100 мл испытуемой воды в коническую колбу, добавляют 5 мл аммиачного буферного раствора и 5 капель индикатора хромогена черного, после чего проводят титрование раствором трилона Б (0,05 н). Титрование следует проводить аккуратно, внимательно наблюдая за постепенным изменением окраски от винно-красной через переходные окраски (фиолетовую, грязно-синюю) до голубой. При дальнейшем прибавлении трилона Б окраска не меняется. Определение повторяют и берут средний результат.

Расчет общей жесткости производят по формуле (2.29):

$$N_{\text{общ}} = \frac{n_{\text{сред}} \cdot N \cdot K \cdot 1000}{V} \quad (\text{мг} - \text{экв/л}), \quad (2.29)$$

где $n_{\text{сред}}$ – количество трилона Б, израсходованного на титрование, мл (по среднему результату двух проб); N – нормальность раствора трилона Б (0,05 н); K – поправочный коэффициент к нормальности трилона Б; V – объем пробы, мл.

Лабораторная работа № 13. Определение сульфатов объемным йодометрическим методом в природных водах

Соли серной кислоты (H_2SO_4) в природной среде встречаются в небольших количествах (до 20–30 мг SO_4^{-2} /л). Значительное увеличение количества сульфатов зависит, прежде всего, от попадания в водоем хозяйственно-бытовых и промышленных сточных вод. Сульфат-ионы не оказывают вредного влияния на водных животных и растения, если даже концентрация SO_4^{-2} в воде достигает 1 г/л, а для некоторых рыб (караси)

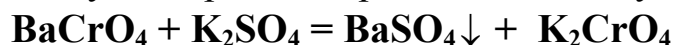
даже 10 г/л. Отмечено, что малые концентрации сульфатов стимулируют жизненные процессы гидробионтов.

Сульфаты играют немаловажную роль в возникновении сероводорода в воде в результате восстановления сернокислых солей. Поэтому, если водоем богат органическими остатками и сульфатами, то это может привести к стойкому заражению водоема сероводородом.

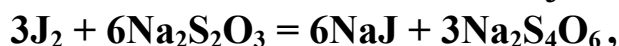
Самым простым и старым методом определения сульфатов в лабораторных условиях является весовой, но он требует более сложной аппаратуры по сравнению с объемным. Последний более доступен, но менее чувствителен [Строганов Н.С., 1980].

Объемный йодометрический метод

Принцип метода заключается в следующем: вода при прибавлении хромовокислого бария выделяет хромовую кислоту в эквивалентном количестве сульфат-иону, который содержится в исследуемой воде:



Образовавшуюся хромовую кислоту определяют йодометрически, оттитровывая выделившийся йод гипосульфитом:



где SO_4^{2-} соответствует $\text{CrO}_4 \rightarrow 3\text{J} \rightarrow 3\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, или 96 г SO_4^{2-} соответствует трем нормальностям $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, или 32 г SO_4^{2-} соответствует одной нормальности $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$.

Выполнение работы возможно с применением тест-комплектов, готовых компонентов и принадлежностей производства ЗАО «Крисмас+». Подробная информация представлена в приложении.

Оборудование и материалы

1. Соляная кислота, раствор 2,5 н. Берут 20,8 мл концентрированной HCl (уд. вес 1,19) и доводят до 100 мл дистиллированной водой.

2. Раствор хромовокислого бария. 19,44 г химически чистого K_2CrO_4 и 24,44 г химически чистого $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Растворяют каждый из них в 1 л дистиллированной воды, затем нагревают до кипения и сливают оба раствора в мерную колбу на 3 л. Обе литровые колбы необходимо ополоснуть дистиллированной водой и вылить в трехлитровую колбу. Дают некоторое время постоять, чтобы жидкость над осадком хромовокислого бария посветлела, и затем её сливают. Оставшийся осадок промывают 3-5 раз дистиллированной водой. Осадок переносят в литровую колбу и доводят затем до литра дистиллированной водой. 5 мл этой суспензии осаждают 96 мг сульфат-иона. Можно пользоваться и сухим химически чистым хромовокислым барием. Тогда берут 0,5 г BaCrO_4 на 200 мл исследуемой воды.

3. 10%-й раствор йодистого калия. Раствор необходимо хранить в темноте.

4. 5%-й раствор аммиака. Берут 20 мл 25%-го раствора аммиака и доводят до 100 мл дистиллированной водой.

5. 0,05 н раствор гипосульфита (серноватистокислого натрия). Растворяют 6,2 г $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ дистиллированной водой в мерной колбе на 1 л.

6. 2%-й водорастворимый крахмал.

Ход анализа

Определение сульфатов в пробе. Количество исследуемой воды для определения SO_4^{2-} необходимо брать на основе качественного испытания анализируемого раствора. Для определения сульфатов берут в коническую колбу 200 мл исследуемой воды, если же берут не 200 мл, а менее (в случае повышенного содержания сульфатов), то до 200 мл доводят дистиллированной водой. Нагревают жидкость до кипения, а затем прибавляют осторожно понемногу 5 мл взболтанной суспензии (BaCrO_4) и 1 мл 2,5 н раствора соляной кислоты. Оставляют кипеть жидкость ещё минуты 3–4. В это время появляется желто-красная или бурая окраска жидкости.

Затем, сняв колбу с нагрева, нейтрализуют горячую жидкость 5%-м аммиаком по каплям до перехода окраски в лимонно-желтый цвет. Пары аммиака, скапливающиеся в колбе, продувают грушей и проверяют по лакмусовой бумаге жидкость на слабощелочную реакцию. Так нейтральная или слабощелочная смесь, остывшая до комнатной температуры, переносится в мерную колбу на 250 мл. Туда же сливают смывные воды, которыми и доводят мерную колбу до метки.

После взбалтывания фильтруют содержимое 250 миллилитровой колбы через сухой складчатый фильтр, отбрасывая первые порции фильтрата, а из остальной части фильтрата готовят 2 параллельные пробы. В две конические колбы с притертыми пробками (объемом 200 мл) цилиндром отмеряют по 100 мл фильтрата, затем добавляют по 10 мл 10%-го раствора йодистого калия (можно 1 г сухого КJ) и по 10 мл 2,5 н раствора соляной кислоты и оставляют стоять в темноте, в прохладном месте (в холодной воде), плотно прикрытые пробками, на 15–20 мин. После этого выделившийся йод титруют 0,05 н раствором гипосульфита до слабо-желтого цвета, а затем прибавляют 1 мл 2%-го раствора крахмала и дотитровывают до исчезновения синего оттенка. Количество 0,05 н раствора гипосульфита, пошедшее на титрование, эквивалентно ионам сульфата.

Поправку на нормальность серноватистокислого натрия устанавливают, как обычно, по двуххромовокислому калию. Этот метод применим к водам, где содержание сульфатов выше 10 мг/л.

Расчет

Содержание сульфатов в воде рассчитывают по формуле (2.30)

$$\text{SO}_4^{-2} \left(\frac{\text{мг}}{\text{л}} \right) = \frac{2,5 \cdot n_{\text{сред}} \cdot 1,6 \cdot 1000}{V}, \quad (2.30)$$

где $n_{\text{сред}}$ – количество 0,05 н раствора серноватисокислого натра, пошедшее на титрование, мл (по среднему результату двух проб); 1,6 – пересчетный коэффициент из 0,05 н раствора гипосульфита на сульфат-ион; V – объем исследуемой воды, взятой для определения сульфатов (в нашем случае 200 мл); 1000 – пересчет на литр.

Расчет может быть упрощен и произведен по формуле (2.31)

$$\text{SO}_4^{-2} = 20 \cdot n_{\text{сред}} \text{ (мг/л)}. \quad (2.31)$$

Фактическую концентрацию сульфат-аниона сравнить с соответствующими нормативами, используя приложение 1. Сделать вывод.

Лабораторная работа № 14. Определение хлоридов объемным аргентометрическим методом в природных водах

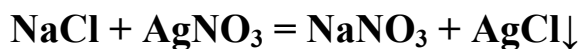
Хлор-ион – важнейший показатель минерализации генезиса природных вод. Он содержится во всех типах природных вод, начиная с атмосферных осадков, в которых его концентрация составляет от десятых долей до целых мг/л. Содержание солей хлористоводородной кислоты (HCl) в пресных водоемах обычно превышает 40 мг Cl⁻/л, но может быть значительно больше (источником являются в таком случае сточные воды). В хлоридно-натриевых, кальциевых и магниевых рассолах содержание Cl⁻ иона доходит до 200–300 г/л. Хлориды могут быть как минерального (засоленные почвы), так и органического происхождения. Количественное определение хлоридов необходимо для оценки воды в санитарном отношении.

Существует несколько методов определения хлоридов: весовой, потенциометрический, турбидиметрический, объемные: аргентометрический, меркуриметрический и др. [Резников А.А., 1970].

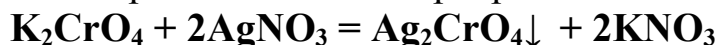
Наиболее точным методом определения больших количеств хлор-иона при его содержании от десятков мг/л до более высоких концентраций является весовой метод. Вполне удовлетворительные результаты дает объемный аргентометрический метод с хроматом калия в качестве индикатора, особенно для вод, содержащих не более 2–3 г хлор-иона в 1 л. В кислых и сероводородных водах определение Cl⁻ проводится роданидным методом. Малые количества Cl⁻ (до 10 мг/л) следует определять турбидиметрическим методом. Хорошие результаты дает и меркуриметрический метод, не уступающий по точности аргентометрическим методам.

Объемное аргентометрическое определение с хроматом калия (объемный метод Мора)

Этот метод основан на образовании малорастворимого осадка хлористого серебра, получаемого при реакции Cl^- -ионов с раствором азотистого серебра:



Для определения конца этой реакции добавляют K_2CrO_4 в качестве индикатора. При наличии в воде хлоридов происходит выпадение в осадок хлористого серебра, когда все ионы хлора будут связаны. Ионы серебра вступают в реакцию с ионами хромовой кислоты и образуют красно-бурый осадок хромовокислого серебра:



Растворимость осадка AgCl значительно меньше растворимости осадка Ag_2CrO_4 , который при наличии свободных ионов хлора неустойчив, он растворяется, и серебро прочно связывается с хлором. Только после полной реакции серебра со всеми ионами хлора образуется устойчивый осадок Ag_2CrO_4 . Появление красно-бурого осадка Ag_2CrO_4 указывает на конец титрования.

Реактивы

1. Калий хромовокислый, 10%-й раствор.
2. Серебро азотнокислое, 0,1 н раствор: 17 г AgNO_3 растворяют в 1 л дистиллированной воды. Нормальность раствора устанавливают по фиксаналу хлористого натрия с индикатором хромовокислым калием.

Производят два определения: ориентировочное и точное. Если по данным ориентировочного определения вода содержит большое количество Cl^- -иона, то для точного определения ее разбавляют дистиллированной водой. Объем разбавленной воды для точного определения отбирают с таким расчетом, чтобы на одно определение расходовалось 5–10 мл 0,1 н раствора AgNO_3 .

Ход анализа

1. Определение поправочного коэффициента к титру AgNO_3 . В коническую колбу на 200 мл вносят 10 мл 0,1 н раствора NaCl и 90 мл дистиллированной воды, прибавляют 3 капли 10% раствора K_2CrO_4 . Содержимое колбы титруют 0,1 н раствором AgNO_3 до перехода лимонно-желтой окраски мутного раствора в оранжево-красную, не исчезающую в течение 15–20 сек. По результатам двух титрований рассчитывают поправочный коэффициент к титру AgNO_3 по формуле (2.32):

$$K = \frac{n_{(\text{мл})} \text{NaCl}}{n_{(\text{сред})} \text{AgNO}_3} . \quad (2.32)$$

2. Ориентировочное определение хлоридов. В пробирку отмеряют пипеткой 1 мл исследуемой воды и прибавляют 1 каплю 10%-го

раствора K_2CrO_4 . Затем при постоянном помешивании прибавляют из бюретки по каплям 0,1 н раствора $AgNO_3$ до появления не исчезающей бурой окраски (1 капля соответствует объему равному 0,1 мл).

Содержание хлор-иона рассчитывают по формуле (2.33)

$$Cl\left(\frac{мг}{л}\right) = V \cdot N \cdot K \cdot 35,5 \cdot 1000, \quad (2.33)$$

где V – объем раствора азотнокислого серебра, израсходованного на определение хлор – иона в 1 мл воды, мл; N – нормальность раствора азотнокислого серебра (0,1 н); K – поправочный коэффициент к титру азотнокислого серебра.

3. Точное определение хлоридов. Если при ориентировочном определении найденное содержание Cl^- -иона не превышает 400 мг/л, точное определение производят в 50 мл воды (при более высоком содержании хлоридов отбирают соответственно меньшее количество воды). К исследуемой воде прибавляют 0,5 мл 10%-го раствора K_2CrO_4 и при постоянном помешивании титруют 0,1 н раствором $AgNO_3$ до появления не исчезающей бурой окраски жидкости. Определение повторяют и берут средний результат.

Содержание хлор-иона рассчитывают по формуле (2.34)

$$Cl^- \left(\frac{мг}{л}\right) = \frac{V_1 \cdot N \cdot K \cdot 35,46 \cdot 1000}{V}, \quad (2.34)$$

где V_1 – объем раствора азотнокислого серебра, израсходованного на определение, мл (по среднему результату двух проб); N – нормальность раствора азотнокислого серебра (0,1 н); K – поправочный коэффициент к титру азотнокислого серебра; V – объем исследуемой воды, мл; 35, 46 – эквивалентный вес Cl^- ; 1000 – перевод в литр.

Фактическую концентрацию хлорид-аниона сравнить с соответствующими нормативами, используя приложение 1. Сделать вывод.

Лабораторная работа № 15. Фотометрическое определение массовой концентрации алюминия в водах (с алюминоном)

Метод основан на способности иона алюминия образовывать с алюминоном комплексное соединение оранжево-красного цвета, которое фотометрируется при длине волны 525–540 нм. Реакция осуществляется при рН 4,5–4,65 в присутствии сульфата аммония в качестве стабилизатора окраски комплексного соединения. Диапазон измерений метода от 0,04 до 0,56 мг/дм³ включительно. Погрешность измерений – 16 %. [ПНД Ф 14.1:2:4.166-2000, 2004].

Выполнение работы возможно с применением тест-комплектов, готовых компонентов и принадлежностей производства ЗАО «Крисмас+». Подробная информация представлена в приложении.

Средства измерений, вспомогательное оборудование

1. Спектрофотометр или фотоэлектроколориметр (при $L = 525\text{--}540$ нм).

2. Кюветы с толщиной оптического слоя 30 мм

3. Весы лабораторные

4. Стаканы химические

5. Пипетки градуированные

6. Реактивы и материалы

7. Алюминон (аммонийная соль ауринтрикарбоновой кислоты)

8. Аммоний серноокислый

9. Кислота аскорбиновая

10. Аммоний надсерноокислый (персульфат)

Реактивы

1. Основной раствор ионов алюминия. Взвешивают две-три гранулы алюминия на аналитических весах с точностью до четвертого знака после запятой. Навеску помещают в мерную колбу вместимостью 500 см³, добавляют 15 см³ дистиллированной воды и 10 см³ концентрированной соляной кислоты. После растворения алюминия объем раствора доводят до метки дистиллированной водой. Рассчитывают массовую долю концентрации ионов алюминия в полученном растворе по формуле (2.35)

$$C_{Al} = \frac{a \cdot 1000}{V}, \quad (2.35)$$

где C_{Al} – массовая концентрация ионов алюминия, мг/см³; a – навеска металлического алюминия, г; V – объем мерной колбы, см³.

2. Промежуточный раствор с массовой концентрацией ионов алюминия 50,0 мкг/см³. Рассчитывают объем основного раствора, который необходимо взять для получения 100 см³ раствора с концентрацией алюминия 50,0 мкг/см³ по формуле (2.36)

$$V = \frac{50 \cdot 100}{C_{Al} \cdot 1000}, \quad (2.36)$$

где V – объем основного раствора алюминия в основном растворе, см³; C_{Al} – массовая концентрация алюминия в основном растворе, мг/см³.

Рассчитанный объем основного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, доливают дистиллированной водой до метки и перемешивают. Хранят не более 1 месяца.

3. Рабочий раствор с массовой концентрацией ионов алюминия 10,0 мкг/см³. Пипеткой вместимостью 20 см³ отбирают 20 см³ промежуточного раствора алюминия, помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³ и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. Хранят не более суток.

4. Приготовление ацетатного буферного раствора (рН=4,6±0,1). 400 г трехводного уксусного натрия помещают в мерную колбу вместимостью 1000 см³ и растворяют его при небольшом нагревании в 400–500 см³ дистиллированной воды, приливают 183 см³ ледяной уксусной кислоты и после охлаждения объем доводят до метки водой. рН раствора контролируют потенциометрическим методом. Хранят не более одного месяца.

5. Приготовление раствора сульфата аммония 50 г сульфата аммония растворяют в 90 см³ дистиллированной воды. Раствор хранят в полиэтиленовой посуде в течение 3-х месяцев.

6. Приготовление раствора аскорбиновой кислоты 0,3 г аскорбиновой кислоты растворяют в 10 см³ дистиллированной воды. Раствор готовят непосредственно перед анализом.

7. Приготовление раствора алюминона 0,5 г алюминона растворяют в стакане в 100 см³ нагретой до кипения воде, раствор охлаждают до комнатной температуры, приливают 12,5 см³ ацетатного буферного раствора и переливают в мерную колбу вместимостью 250 см³. Раствор доводят до метки дистиллированной водой. Хранят не более 3 месяцев.

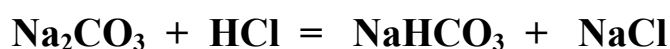
Калибровочный график

В мерные колбы вместимостью 25 см³ помещают 0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,7; 1,0 и 1,4 см³ рабочего стандартного раствора, что соответствует 0,0; 1,0; 2,0; 4,0; 7,0; 10,0; 14,0 мкг алюминия в 25 см³ пробы или 0; 0,04; 0,08; 0,16; 0,28; 0,40; и 0,56 мг/дм³ алюминия. В нейтральный раствор добавляют 1 см³ раствор сульфата аммония, 2,5 см³ ацетатного буферного раствора, раствор перемешивают, приливают 1 см³ аскорбиновой кислоты и 2 см³ раствора алюминона. Через 25–30 мин раствор переносят в мерную колбу вместимостью 50 см³, ополаскивают стакан несколько раз 5 см³ дистиллированной воды, каждый раз сливая промывную воду в мерную колбу с раствором. Затем раствор в колбе доводят до метки водой, перемешивают и измеряют оптическую плотность раствора при $L = 252\text{--}540$ нм в кювете 30 мм по отношению к воде. Одновременно аналогично готовят холостую пробу, обрабатывая дистиллированную воду. Оптическую плотность холостой пробы измеряют относительно дистиллированной воды. Содержание алюминия в мг/дм³ находят по градуировочному графику. Делают вывод.

Лабораторная работа № 16. Титриметрическое определение карбонатов в природных водах

Карбонаты могут находиться в водах, имеющих щелочную реакцию ($\text{pH} > 8,37$). Таких природных вод немного. Однако в период «цветения» воды в результате фотосинтеза исчезает свободная CO_2 и соотношение между разными формами угольной кислоты сдвигается в щелочную сторону образования карбонатов. Этот процесс наблюдается почти во всех стоячих водоемах в средних и южных широтах нашей страны.

Если исследуемая вода дает розовый цвет с фенолфталеином, то в ней можно определить карбонаты путем титрования пробы кислотой до момента обесцвечивания индикатора, т.е. $\text{pH} = 8,3$. Реакция протекает по схеме – на одну молекулу карбоната идет одна молекула кислоты:



Выполнение работы возможно с применением тест-комплектов, готовых компонентов и принадлежностей производства ЗАО «Крисмас+». Подробная информация представлена в приложении.

Оборудование и материалы

1. 0,1 н (или 0,05 н) раствор HCl .
2. 1% -й спиртовый раствор фенолфталеина.
3. 0,1 н (или 0,05н) раствор тетрабората натрия ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$)

Ход анализа

1. **Определение нормальности HCl .** Для определения поправочного коэффициента к нормальности HCl (0,1 н) пользуются точным 0,1 н раствором тетрабората натрия ($\text{Na}_2 \text{B}_4 \text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$), называемым также «бурой». Раствор буры весьма устойчив, может быть приготовлен достаточно точно и хорошо титруется с метилоранжем.

В коническую колбу на 250 мл отмеряют пипеткой 15 мл 0,1 н раствора буры и добавляют цилиндром 85 мл дистиллированной воды. Затем добавляют 2–3 капли метилоранжа. Титруемый раствор должен быть окрашен не очень интенсивно, иначе это затрудняет наблюдение за переходом окраски. Пробу титруют до слабо-оранжевой окраски с розовым оттенком. Появившаяся окраска не должна исчезать в течение 2–3 мин. При дальнейшем добавлении HCl к титруемому раствору интенсивность розовой окраски нарастает.

Титрование повторяют 2–3 раза, расхождение между параллельными определениями не должно превышать 0,5 мл. Берут среднеарифметическое значение определения и поправочный коэффициент рассчитывают по формуле (2.37)

$$K = \frac{n(\text{мл})\text{NaB}_4\text{O}_2}{n_{\text{сред}}(\text{мл})\text{HCl}} \quad (2.37)$$

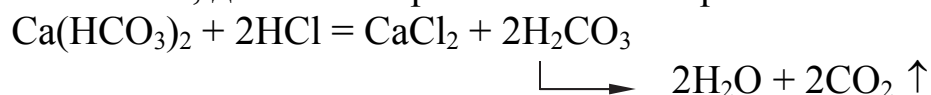
3. Расчет содержания карбонатов проводят по формуле (2.38)

$$\text{CO}_3^{-2} \left(\frac{\text{МГ}}{\text{л}} \right) = \frac{n_{\text{сред}} \cdot 2,2 \cdot 1000}{V} \quad , \quad (2.38)$$

$$\text{NaHCO}_3 + \text{HCl} = \text{NaCl} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$$

Лабораторная работа № 17. Титриметрическое определение бикарбонатов в природных водах

Определения бикарбонатов можно произвести путем титрования пробы кислотой, до полного разложения бикарбонатов по схеме:



Конец реакции определяется по изменению цвета индикатора метилоранжа из желтого в розоватый (рН около 4,5). В случае большого количества бикарбонатов в воде выделяющую CO_2 удаляют из сферы реакции путем продувания воздуха из груши через пробу. Как видно из уравнения, каждая молекула HCl вытесняет одну молекулу CO_2 , т.е. 1н HCl соответствует 44 г CO_2 .

Указанная методика, несмотря на всю ее простоту, дает хорошие результаты для подавляющего большинства пресных вод. Ошибка определений обычно не превышает 0,5 %, если присутствует большое количество бикарбонатов [Строганов Н.С., 1980., Прожорина Т.И., 2006., ч. 1].

Реактивы

1. 0,1н раствор HCl .
2. Индикатор метилоранж, 0,1%-й раствор.
3. Свидетель. Чтобы всегда дотитровывать до определенного цвета индикатора, рекомендуется приготовить свидетель. Для этого в колбочку (такую же, как и при титровании) наливают 100 мл хорошей дистиллированной воды (лучше брать бидистиллят), 3 капли метилоранжа и насыщают воду CO_2 дыханием (продувать через стеклянную трубочку, с вложенной ватой со стороны рта). Вода имеет рН = 4,47. Она будет служить эталоном, до какого цвета надо дотитровывать.
4. 0,1 н (или 0,05 н) раствор тетрабората натрия (раствор буры) ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$).

Ход анализа

1. Определение бикарбонатов в пробе. В колбу емкостью 200 мл наливают 100 мл исследуемой воды, прибавляют 3 капли метилоранжа и титруют кислотой 0,1 н раствором HCl до появления у индикатора цвета аналогичного цвету свидетеля. При таком способе титрования получают хорошую сходимость результатов. Определение повторяют и берут средний результат.

2. Расчет бикарбонатов проводят по формуле (2.39)

$$\text{HCO}_3^- \left(\frac{\text{мг}}{\text{л}} \right) = \frac{n_{\text{сред}} \cdot K \cdot 4,4 \cdot 1000}{V}, \quad (2.39)$$

где $n_{\text{сред}}$ – количество 0,1 н кислоты, пошедшей на титрование пробы V , мл (по среднему результату двух проб); K – поправка на 0,1 н HCl (методика определения « K » приведена в работе № 16); 4,4 – коэффициент 1 мл 0,1 н HCl освобождает 4,4 мг CO_2 из бикарбоната (для 0,05 н он будет равен 2,2, а для 0,01 н – 0,44); 1000 – перевод на литр.

Фактическую концентрацию HCO_3^- -иона сравнить с соответствующими нормативами, используя приложение 1. Сделать вывод.

Лабораторная работа № 18. Фотоколориметрическое определение железа общего в природных водах с орто-фенантролином

В поверхностных водах Fe (II) содержится в виде гуминовокислого железа, в подземных – главным образом в виде бикарбоната железа $\text{Fe}(\text{HCO}_3)_2$. При контакте подземной воды с воздухом бикарбонат окисляется с образованием бурых хлопьев $\text{Fe}(\text{OH})_3$, придающих воде мутность и окраску, если содержание железа больше 0,5 мг/л.

При содержании железа больше 1 мг/л вода приобретает вяжущий привкус, ухудшаются органолептические свойства воды, она становится непригодной к употреблению и в быту и в промышленности. При этом начинают усиленно размножаться железоусваивающие микроорганизмы, в результате уменьшается просвет водопроводных труб, а отрыв отложений со стенок ухудшает вид и вкус воды. ПДК железа для питьевой воды 0,3 мг/л. Железо в больших количествах встречается в сточных водах травильных цехов, в сточных водах от крашения тканей и т.д.

Пробы для определения железа не требуют консервации.

Метод определения основан на способности катиона железа (2) в интервале pH от 3 до 9 образовывать с орто-фенантролином комплексное оранжево-красное соединение. При наличии в воде железа (3) оно в нейтральной или слабокислой среде восстанавливается солянокислым гидроксиламином до железа (2). Таким образом, определяется суммарное содержание железа (2) и железа (3). Анализ проводится в ацетатном буферном растворе при pH=4,5–4,7. Диапазон измерений: 0,08–3,0 мг/л. Используемый метод определения железа является модифицированным на основе ГОСТ 4011 [Прожорина, 2010].

Интенсивность окраски образующихся комплексов пропорциональна концентрации железа в растворе. Ее измеряют на фотоколориметре и по величине оптической плотности определяют концентрацию железа. Определению мешают окраска и высокое содержание органических веществ.

Измерения по данной методике выполняются при использовании портативного фотоколориметра типа «Экотест-2020».

Оборудование и материалы

1. Фотоколориметр типа «Экотест-2020» со светодиодом с рабочей длиной волны 505 нм (рис. 1.6 в).

2. Орто-фенантролин. 0,5 г орто-фенантролина растворяют в стакане в 500 мл дистиллированной воды, подкисленной 15–20 каплями соляной кислоты (1:1). Раствор хранят в темном стеклянном сосуде с притертой пробкой. Срок хранения раствора 1 год.

3. Солянокислый гидроксиламин. 25 г солянокислого гидроксиламина растворяют в стакане в 225 мл дистиллированной воды, отмерен-

ной мерным цилиндром. Раствор хранят в темном стеклянном сосуде с притертой пробкой. Срок хранения раствора 1 год.

4. Ацетатный буферный раствор ($\text{pH} = 4,5$). 250 г уксуснокислого аммония помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл и растворяют в 120 см дистиллированной воды, прибавляют 700 мл ледяной уксусной кислоты и доводят объем до 1000 мл дистиллированной водой. (*Техника безопасности*). Раствор хранят при комнатной температуре в местах, защищенных от попадания прямых солнечных лучей. Срок хранения раствора 1 год.

5. Раствор соляной кислоты (0,1 моль/л).

6. Соль Мора с концентрацией 1,0 мг/мл или из ГСО 8032-94 (госуд. стандартный образец) с аттестованным содержанием железа 1,0 мг/мл.

Подготовка к анализу

1. Приготовление стандартных растворов

1.1. Приготовление основного стандартного раствора из ГСО 8032-94 (комплект №5К-1) с содержанием железа 1,0 мг/мл

5 мл стандартного раствора из ампулы с помощью пипетки помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки раствором соляной кислоты (0,1 моль/л экв). 1 мл раствора должен содержать 0,10 мг железа. Срок хранения раствора – 1 месяц.

1.2. Приготовление рабочего стандартного раствора

Готовят в день проведения анализа. 10 мл основного стандартного раствора (пункт 1.1) с помощью пипетки помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. В 1 мл раствора содержится 0,01 мг железа. Срок хранения раствора – 1 сутки.

1.3. Приготовление основного стандартного раствора из соли железа

Навеску 0,702 г соли Мора, взвешенную на аналитических весах, помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворяют в дистиллированной воде, прибавляют 2 мл концентрированной соляной кислоты и доводят объем раствора дистиллированной водой до метки. В 1 мл раствора содержится 0,1 мг железа. Срок хранения раствора – 1 месяц.

1.4. Приготовление рабочего стандартного раствора.

Готовят в день проведения анализа. 10 мл основного стандартного раствора (пункт 1.3) с помощью пипетки помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. В 1 мл раствора содержится 0,01 мг железа. Срок хранения раствора – 1 сутки.

1.5. Построение градуировочного графика с применением фотокориметра «Экотест-2020»

Готовят серию градуировочных растворов. В ряд мерных колб вместимостью 50 мл с помощью пипеток вместимостью 1, 2, 5 и 10 мл вносят определенный объем рабочего стандартного раствора согласно табл. 2.7.

В мерные склянки градуированными пипетками отберите стандартный раствор ионов железа и добавьте дистиллированную воду в соответствии с табл. 4. В каждую склянку добавьте 0,2 мл раствора солянокислого гидроксиламина, перемешайте, добавьте 1,0 мл ацетатного буферного раствора, перемешайте и добавьте 0,5 мл раствора ортофенантролина, перемешайте. Выдержите растворы в склянках 20 мин для полного развития окраски.

Установите рабочую длину волны 505 нм. Кювету установите в прибор, закройте крышкой и измерьте оптическую плотность раствора № 1. Аналогично замерьте оптические плотности всех градуировочных растворов этой серии относительно холостой пробы, которую готовят на дистиллированной воде (без внесения стандартного раствора) и последовательно добавляя 0,2 мл раствора солянокислого гидроксиламина, 1,0 мл ацетатного буферного раствора и 0,5 мл раствора ортофенантролина.

Таблица 2.7

Исходные данные для работы

Наименование раствора и порядок его использования	Номер градуировочного раствора						
	1	2	3	4	5	6	7
Объем рабочего стандартного раствора (пункты 1.2 или 1.4), мл	0,25	0,5	1,0	2,0	3,5	5,0	10,0
Дистиллированная вода, мл	до 50						
Масса железа в растворе, мкг	2,5	5,0	10	20	35	50	100
Массовая концентрация железа в растворе, мг/л	0,05	0,1	0,2	0,4	0,7	1,0	2,0

По полученным данным постройте график зависимости измеренных значений оптической плотности от концентрации градуировочных растворов. По оси ординат откладывайте значения оптической плотности, а по оси абсцисс – величину концентрации вещества в мг/л.

Градуировочный график постройте с помощью программного обеспечения к фотоколориметру «Экотест-2020». Полученный градуировочный график сохраните в памяти ПК.

Ход анализа

Включите фотоколориметр «Экотест-2020». Установите рабочую длину волны 505 нм. Оптическую плотность исследуемой пробы прово-

дят аналогично методике для построения калибровочного графика. Готовят две параллельные пробы, за результат берут среднеарифметическое значение.

Определить массовые концентрации железа общего в анализируемых пробах по ранее построенному градуировочному графику, хранящемуся в памяти ПК.

Фактическую концентрацию железа общего сравнить с соответствующими нормативами, используя приложение 1. Сделать вывод.

Лабораторная работа № 19. Анализ природных вод экспресс-методами

Аналитические методы контроля окружающей среды (воздух, вода, почва) предусматривают как лабораторные, так и экспрессные методы анализа. Лабораторные анализы выполняют на базе лаборатории с использованием химических или инструментальных методов. Экспресс-анализы обычно ускоряют и упрощают те же самые анализы в несколько раз, но для их выполнения необходимы портативные (переносные) приборы. Эти же экспресс-анализы можно использовать в полевых условиях для предварительной оценки экологического состояния исследуемой среды.

Достоинства лабораторных методов:

- высокая точность результатов;
- удобство проведения анализа (т.к. имеется в наличии химическая посуда и реактивы, электрическая энергия, дистиллированная вода).

Недостатки лабораторных методов заключаются в следующем:

- все они требуют значительного времени как для отбора проб, так и для их анализа;
- для инструментальных методов используют дорогостоящую аппаратуру;
- специальная подготовка работы на этих приборах.

Преимущества экспресс-методов анализа:

- быстрота проведения анализа;
- получение результатов непосредственно на месте отбора пробы;
- простота метода и аппаратуры, что позволяет проводить анализ лицам, не имеющим специальной подготовки;
- малая масса прибора, комплектность, портативность аппаратуры;
- достаточная чувствительность и точность анализа;
- не требуется регулировки и настройки аппаратуры перед анализом;
- не требуется электроэнергии.

Тест-системы для контроля водных растворов

При экспресс-анализе проб воды экспресс-методами часто имеют в виду их анализ с применением тест-систем. При пропитывании какого-

либо носителя химико-аналитическим составом практически имеют место как процессы «физической» сорбции реагентов, так и их химического (ковалентного) закрепления. Поэтому можно говорить о неких граничных случаях, в которых имеет место чисто «физическое» или чисто «химическое» взаимодействие при закреплении реагентов на носителе, в то время как в большинстве промышленно производимых потребительских форм тест-систем результирующее взаимодействие реагентов и носителя имеет физико-химический характер вследствие действия сил физико-химического взаимодействия разного радиуса действия.

Следует отметить такой способ конструирования тест-систем, как защита рабочего участка тест-системы полимерной пленкой с одной или обеих сторон рабочего участка (рис. 2.7).

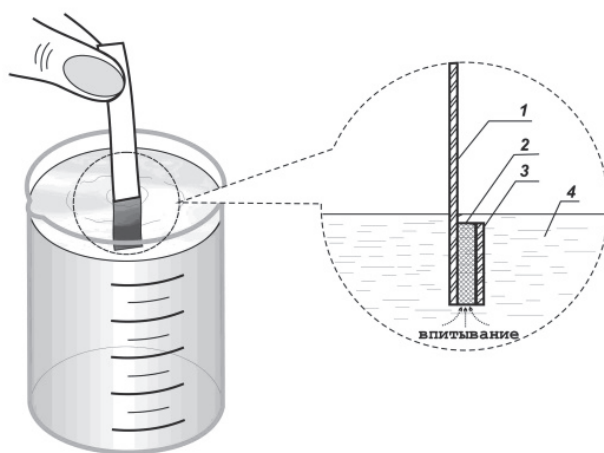


Рис. 2.7. Тест-система с полимерной защитой рабочего участка:
1— полимерная пленка-держатель; 2— рабочий участок (активный слой);
3— защитное полимерное покрытие; 4— анализируемый раствор

Легко наносимая технологически, пленка создает барьер по отношению к воздействию как обмывающего анализируемого раствора, так и факторов окружающей среды, создавая тем самым ряд положительных качеств потребительской формы в целом. Рассмотрим эти качества подробнее. Во-первых, подобная защита активного слоя позволяет свести к минимуму «смывание» рецептуры с носителя, т.к. исследуемый раствор не омывает носитель, а впитывается его основой (бумажной, тканевой, фибросорбционной и т.п.) через торцевую зону (см. рис. 2.7).

Во-вторых, при заключении носителя рецептуры в полимерный коридор происходит впитывание анализируемого раствора через край тест-полоски в строго определенном количестве, причем после насыщения впитывание прекращается. Это обеспечивает точную дозировку анализируемого раствора и позволяет повысить воспроизводимость анализа. Количество анализируемого компонента (аналита), попадающее на реакционный участок, можно выразить его массой или числом эквивалентов на единицу площади носителя.

В-третьих, достигается изоляция аналитической рецептуры от факторов окружающей среды – влажности и кислорода воздуха. Можно отметить также вероятное негативное влияние на рецептуру тест-систем и других химически активных соединений, которые присутствуют в воздухе, либо могут появиться внезапно при залповых техногенных загрязнениях (углекислым газом, оксидами азота, сернистым ангидридом, озоном, хлором и др.). Тем самым повышается устойчивость товарной формы тест-системы к внешним воздействиям, и увеличиваются сроки годности тест-систем.

Наконец, следует отметить также, что индикационный эффект наблюдается сквозь прозрачное полимерное покрытие, а сама пленка является держателем рабочего участка, позволяя обходиться без пинцета или к.л. приспособлений (см. рис. 2.8). Подобным образом сконструированы многие из производимых ведущими на мировом рынке фирмами тест-систем для анализа воды и биологических сред – LaMotte (США), Nach (США), Merck (Германия) и др.

В качестве примера промышленно производимых в России тест-систем с активным слоем носителя, защищенным полимерными пленками, приведем тест-системы производства ЗАО «Крисмас+» для анализа воды и водных растворов (табл. 2.8), реализуемые индивидуально и в составе портативных экспресс-лабораторий серии «Пчёлка».

Таблица 2.8

Тест-системы с полимерной защитой активного слоя

№	Наименование тест-системы	Определяемый компонент	Диапазон определяемой концентрации, мг/л	Индикационный эффект
1	Активный хлор	Активный хлор в свободной и связанной формах (Cl_2 , гипохлориты, хлорамины и т.п.)	0-1,2-5-10-30-100	От белого на синий
2	Железо (2)	Fe^{2+}	0-3-30-300	От белого на розовый
3	Железо (3)	Fe^{3+}	0-30-50-100-1000	От белого на красно-коричневый
4	Железо общее	Сумма Fe^{2+} и Fe^{3+}	0-30-50-100-1000	От белого на бежево-коричневый
5	Медь	Cu^{2+}	0-5-30-300-1000	От белого на жёлто-коричневый

№	Наименование тест-системы	Определяемый компонент	Диапазон определяемой концентрации, мг/л	Индикационный эффект
6	Никель	Ni^{2+}	0-10-100-1000	От белого на розово-красный
7	Сульфид-тест	H_2S , HS^- , S^{2-}	0-10-30-100-300	От белого на серо-коричневый
8	Нитрат-тест	NO_3^-	0-20-50-200-1000	От белого на розово-малиновый
9	Нитрит-тест	NO_2^-	0-1-3-30-3000	От белого на розово-красный
10	Хромат-тест	Cr (VI) в составе CrO_4^{2-} , $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$	0-3-10-100-1000	От белого на фиолетовый
11	pH-тест	pH (водородный показатель)	2-11 ед. pH	От красного до темно-синего

Следует отметить, что тест-система «Нитрат-тест» позволяет определять концентрацию нитратов не только в воде, но и в соках овощей и фруктов, что позволяет оценивать качество продуктов питания – зелени, овощей, фруктов. Загрязненность почвы оценивается с помощью тест-систем путем тестирования предварительно приготовленной почвенной вытяжки из образца почвы или образца, содержащего модельное загрязнение.

Ход анализа

1. Определение pH среды

Водородный показатель выражают величиной pH и определяют в интервале от 1 до 14. В большинстве природных вод pH находится в пределах от 6,5 до 8,5. Более низкие значения pH могут наблюдаться в кислых болотных водах. Летом при интенсивном фотосинтезе pH может повышаться до 9,0. На величину pH влияет содержание карбонатов, гидроокисей, солей, подверженных гидролизу, гуминовых веществ и т.п. Данный показатель является индикатором загрязнения открытых водоемов при выпуске в них кислых и щелочных сточных вод. Для определения реакции среды, т.е. концентрации ионов водорода, пользуются различными методами.

1. **Колориметрический метод** с применением **индикаторной бумаги**. При погружении полоски бумаги в раствор ее окраска меняется и по прилагаемой шкале можно определить pH раствора (но этот метод дает приблизительные количественные значения концентрации ионов

H^+). С помощью индикаторной универсальной бумаги можно определить рН с точностью 0,2–0,3 единиц рН.

2. **Колориметрический метод**, который основан на применении реактивов-индикаторов, меняющих свою окраску в зависимости от концентрации ионов H^+ . Однако измерение цветных растворов и суспензий индикаторным определением невозможно.

3. **Инструментальный метод** с применением стационарных или портативных рН-метров, которые предназначены для измерения рН водных растворов солей, кислот и оснований.

4. **Потенциометрический метод** основан на измерении разности потенциалов, возникающих на границах между внешней поверхностью стеклянной мембраны электрода и исследуемым раствором, с одной стороны, и внутренней поверхностью мембраны и стандартным раствором – с другой. Результат определения не зависит от окраски, мутности, взвеси, присутствия свободного хлора, окислителей или восстановителей, повышенного содержания солей. Влияние температуры компенсируется специальным устройством, вмонтированным в прибор. Потенциометрический метод определения рН воды отличается большой точностью (до 0,02).

На рис. 2.8 представлен портативный (карманный) рН-метр. Прибор имеет большой дисплей, обновляемую поверхность электрода сравнения и возможность замены электродной пары.



Рис. 2.8. Портативный рН-метр модели рНер-3



Рис. 2.9. Портативный тестер модели «DIST 5»

Задача

1. Ознакомиться с принципом метода потенциометрического анализа и работой прибора.

2. Замерить величину рН дистиллированной, водопроводной воды и воды из любого водного объекта рыбохозяйственного назначения. Сравнить с соответствующими нормативами, используя приложение 1. Сделать выводы.

2. Определение минерализации воды

Вкусовые качества воды определяются ее минерализацией, т.е. количество растворенных в ней солей не должно быть более 1 г/л. В некоторых засушливых районах трудно обеспечить население такой водой, предельной нормой для этих районов можно считать следующие градации минерализации (в г/л):

- хорошая до 1,0;
- удовлетворительная 1,0 – 2,0;
- допустимая 2,0 – 2,5;
- предел 2,5 – 3,0.

Очень малая минерализация (до 100 мг/л) ухудшает качество питьевой воды. Вода, не содержащая солей (близкая к дистиллированной) считается вредной, так как понижает осмотическое давление внутри клетки. Это относится к Крайнему Северу, где используют воду от таяния ледников; в такой воде очень малая минерализация и недостаточное количество Ca^{2+} -ионов, что является гигиенической проблемой. Однако повышенная минерализация также ухудшает качество воды, что приводит к зашлаковыванию организма. В соответствии с ГОСТ 2874-82 «Вода питьевая» общая минерализация для вод хозяйственно-питьевого назначения должна быть не выше 1000 мг/л.

Минерализация природных вод – это суммарное содержание всех найденных при химическом анализе воды минеральных веществ (выражается в мг/л, г/л). В океанологии вместо термина «минерализация» используют термин «**соленость морской воды**», которая выражается в промилле.

По степени минерализации различают природные воды (в г/л):

- 1 – слабоминерализованные (от 1 до 2);
- 2 – малой минерализации (от 2 до 5);
- 3 – средней минерализации (от 5 до 15);
- 4 – высокой минерализации (от 15 до 30);
- 5 – рассольные (от 35 до 150);
- 6 – крепко рассольные или рапа (от 150 и более).

К числу главных ионов, содержащихся в природных водах, относятся: Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , CO_3^{2-} , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Na^+ , K^+ .

В зависимости от минерализации природных вод главные ионы располагаются в следующий ряд для пресных вод:

- $\text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Na}^+ + \text{K}^+$;
- $\text{HCO}_3^- > \text{SO}_4^{2-} > \text{Cl}^-$.

Для сильноминерализованных:

- $\text{Na}^+ + \text{K}^+ > \text{Mg}^{2+} > \text{Ca}^{2+}$;
- $\text{Cl}^- > \text{SO}_4^{2-} > \text{HCO}_3^-$.

При определении минерализации воды пользуются различными методами.

1. **Весовой метод**, т.е. по сухому остатку. **Сухим остатком** называют остаток от высушивания при 105 °С профильтрованной исследуемой воды. Он характеризует общее количество растворенных в воде органических и минеральных соединений, не разлагающихся при температуре 105 °С. Величина сухого остатка зависит от общей минерализации воды.

2. **Инструментальный метод**, т.е. с помощью специальных карманных приборов – тестеров, в которых могут быть объединены кондуктомер, солемер и термометр. Тестеры предназначены для измерения электропроводности, солесодержания и температуры воды и водных растворов.

3. **Кондуктометрический метод** основан на измерении электропроводности исследуемого раствора, по которой рассчитывают концентрацию исследуемого вещества (при отсутствии других электролитов).

На рис. 2.9 представлен портативный (карманный) тестер фирмы «HANNA» модели «DIST 5». Прибор имеет эргономичный облегченный корпус с большим ЖК-экраном и возможность смены электрода. Водонепроницаемый корпус, надежно защищающий электронную часть измерителей от воздействия пыли, влаги и грязи, обеспечивает надежную работу прибора и точность измерений в любых условиях.

Задача

1. Ознакомиться с принципом метода кондуктометрического анализа и работой прибора.

2. Замерить величину общей минерализации дистиллированной, водопроводной воды и воды из любого водного объекта рыбохозяйственного назначения. Сравнить с соответствующими нормативами ПДК, используя приложение 1. Сделать выводы.

3. Определение растворенного кислорода

Природные воды всегда содержат растворенные газы. По своему происхождению они могут быть связаны с обменом вода – атмосфера или образовываться в самом водоеме при биологических или физико-химических процессах.

По распространенности в атмосфере особое значение для природных вод могут иметь только азот (78,01 %), кислород (20,95 %), аргон (0,93 %) и диоксид углерода (0,03 %), составляющие 99,92 % атмосферы. В частности, кислород, являясь мощным окислителем, играет особую роль в формировании химического состава природных вод. Образуется он в результате происходящих в природе процессов фотосинтеза. Расходуется на окисление органических веществ, а также в процессе дыхания организмов. Концентрация растворенного кислорода в природ-

ных водах колеблется в ограниченных пределах (от 0 до 14 мг/л). Кислород необходим для существования большинства организмов, населяющих водоемы, и он играет важную роль в разложении органических остатков.

Содержание кислорода в природной воде определяется его растворимостью, которая зависит от температуры и минерализации водного объекта. Так, например, растворимость O_2 с повышением содержания растворенных веществ снижается. Количество растворенного O_2 в воде водоемов питьевого и культурно-бытового пользования в пробе, отобранной до 12 часов дня, должна быть не менее 4 мг/л в любой период года. Количество кислорода, растворенного в воде, имеет большое значение для оценки состояния водоема. Его снижение указывает на резкое изменение биологических процессов в водоемах, а также на загрязнение водных объектов веществами, биологически интенсивно окисляющимися (табл. 2.9).

Таблица 2.9

Оценка состояния водоема по содержанию растворенного O_2

Уровень загрязненности воды	Класс качества водоема	Содержание растворенного O_2		
		Лето, мг/л	Зима, мг/л	% насыще- ния
Очень чистые	I	9	14 - 13	95
Чистые	II	8	12 - 11	80
Умеренно- загрязненные	III	7 - 6	10 - 9	70
Загрязненные	IV	5 - 4	8 - 4	60
Грязные	V	3 - 2	3 - 1	30
Очень грязные	VI	0	0	0

Существует ряд способов определения концентрации растворенного O_2 :

1) **химический** (т.е. титриметрический) метод по Винклеру (точный, но очень длительный);

2) **инструментальный метод** (или экспресс-метод) с использованием портативных кислородомеров (оксиметров) [Прожорина Т.И., 2007., ч. 2].

Прибор предназначен для проведения высокоточных измерений количества растворенного O_2 и температуры как в лабораторных, так и полевых условиях (рис. 2.10).

Области применения: процессы водообработки, получение питьевой воды, в рыбопроизводных хозяйствах и др.



Рис. 2.10. Микропроцессорный портативный оксиметр HI 9143.

Основные технические характеристики:

- автоматическая температурная компенсация (от 0 до + 50 °С) и автоматическая калибровка прибора по воздуху;
- имеется возможность ручной компенсации атм. давления и солености раствора;
- концентрация кислорода осуществляется в ppm (мг/л) или % насыщения воздухом, при этом автоматически учитывается влияние температуры на растворимость O_2 в воде и на проницаемость мембраны;
- благодаря микропроцессору процесс калибровки и измерения становится точным и быстрым;
- прибор выполнен в пластмассовом водонепроницаемом корпусе для максимальной защиты от влияния О.С. как в лабораторных, так и полевых условиях;
- диапазон измерений:
 - мг/л O_2 – от 0,0 до 45,0 мг/л
 - % O_2 – от 0,0 до 300
 - °С – от 0 до +50°С;
- точность измерений: $\pm 0,5\%$;
- питание: 4 батарейки по 1,5 В (100 часов непрерывной работы);
- габариты: 196 x 80 x 60 мм;
- вес – 425 г.

Принцип работы датчика. Датчик на растворенный O_2 имеет мембрану, защищающую полярографические сенсоры и встроенный термистор для измерения температуры и термокомпенсации. Тонкая полупроницаемая мембрана изолирует чувствительные элементы от анализируемого раствора, но пропускает кислород. Когда на чувствительные элементы подается напряжение, прошедший через мембрану O_2 взаимодействует с ними, в результате чего возникает ток, измеряемый прибором.

Ход анализа.

1. Перед началом работы ознакомиться с инструкцией к прибору.

2. Чтобы убедиться в исправности прибора надо замерить концентрацию O_2 (в мг/л) в воде, постоявшей 12 час (воду набрать с вечера). В такой воде концентрация O_2 должна быть больше 10 мг/л, т.к. растворился весь воздух. Или эту же воду можно заменить свежей водой, проаэрированной 10–15 раз грушей, тогда концентрация O_2 должна быть 8–9 мг/л.

3. Отобрать около 500 мл водопроводной воды по правилам, указанным в ГОСТ 17.1.5.05.-85:

- спускаем воду в течение 10–15 мин, чтобы обновить ее от возможных загрязнений;
- хорошо полощем посуду для отбора пробы;
- вода должна медленно течь (толщина струи около 0,5 см), чтобы не насыщаться кислородом;
- емкость для отбора пробы наполняем доверху, чтобы не было воздушной пробки.

4. Убедиться, что прибор был откалиброван по воздуху.

5. Для проведения непосредственно измерений погрузить кончик датчика в исследуемый раствор (при этом термосенсор тоже должен быть погружен).

6. Замерить 3 показателя: температуру воды, концентрацию O_2 в мг/л и в %.

7. Сравнить фактические значения с нормативами ПДК (см. приложение 1), найти класс качества водоема по таблице 2.9 и сделать выводы.

Лабораторная работа № 20. Оценка эффективности очистки сточных вод гидромеханическими методами

Неоднородными, или **гетерогенными**, называют системы, состоящие из двух или более фаз. Эти фазы могут быть отделены друг от друга. Известно, что любая неоднородная бинарная система состоит из дисперсной (внутренней) фазы и дисперсионной среды. В зависимости от физического состояния фаз различают: суспензии, эмульсии, пены, пыли, дымы и туманы.

Суспензия – неоднородная система, состоящая из жидкости и взвешенных в ней твердых частиц. В зависимости от размеров твердых частиц (в мкм) суспензии условно разделяют на грубые (более 100), тонкие (0,5–100) и мути (0,1–0,5).

Эмульсия – система, состоящая из жидкости и распределенных в ней капель другой жидкости, не смешивающейся с первой.

Пена – система, состоящая из жидкости и распределенных в ней пузырьков газа (пены близки к эмульсиям по свойствам).

Пыли и дымы – системы, состоящие из газа и распределенных в нем частиц твердого вещества (5–50 мкм – пыли, 0,3–5 мкм – дымы).

Туман – система, состоящая из газа и распределенных в нем капель жидкости с размерами 0,3–3 мкм.

В производственных условиях для разделения вышеуказанных неоднородных систем применяют следующие гидромеханические методы разделения.

1. Осаждение – процесс разделения взвешенных в жидкости или газе твердых или жидких частиц, осуществляющийся под действием силы тяжести (называется отстаиванием), сил инерции или электростатических сил. Отстаивание применяют для грубого разделения неоднородных систем. Твердая фаза называется осадком, а жидкая – осветленной частью (жидкостью).

2. Фильтрация – процесс разделения с помощью пористой перегородки, способной пропускать жидкость или газ, но задерживать взвешенные в среде твердые частицы. Оно осуществляется под действием сил давления или центробежных сил и применяется для более тонкого разделения, чем путем осаждения. Твердая фаза называется осадком, а жидкая – фильтратом.

3. Центрифугирование – процесс разделения суспензий и эмульсий в поле действия центробежных сил. Твердая фаза называется осадком, а жидкая – фугатом.

4. Мокрое разделение – процесс улавливания взвешенных в газе частиц какой-либо жидкостью.

Задача

1. Разделить на две отдельные фазы сточную воду (меловую суспензию) концентрацией 2 и 6 % следующими методами:

- а) методом отстаивания;
- б) методом фильтрации (при атмосферном давлении и под вакуумом);
- в) методом центрифугирования ($\tau=5$ мин, $n=1000$ и 3000 обор/мин).

2. Рассчитать основные технические характеристики центрифугирования и оценить эффективность очистки сточной воды каждым методом.

Оборудование и материалы

- 1. Центрифуга на 5000 обор/мин.
- 2. Центрифужные пробирки.
- 3. Линейка.
- 4. Фильтровальная бумага.
- 5. 2 и 6%-е меловые суспензии (по 100 мл).
- 6. Насос Комовского.
- 7. Колба коническая на 250 мл.

8. Стакан на 200–300 мл.

9. Воронка стеклянная.

Ход анализа

1) Метод отстаивания. В стакан выливаем 100 мл 2%-й меловой суспензии, перемешиваем и наблюдаем процесс отстаивания.

2) Метод фильтрования при атмосферном давлении. Собираем установку для фильтрования и через складчатый фильтр фильтруем 100 мл 2%-й меловой суспензии. Метод фильтрования под вакуумом. Соединяем колбу для фильтрования с насосом Комовского, с помощью которого создаем вакуум под фильтрующей перегородкой. Постепенно на фильтр переносим 100 мл 2%-й меловой суспензии. Визуально сравниваем эффективность обоих методов.

3) Метод центрифугирования. В две центрифужные пробирки наливаем по 10 мл 2%-й и в другие две пробирки – по 10 мл 6%-й меловой суспензии (суспензию каждый раз взбалтываем, так как мел быстро оседает на дно). Пробирки помечаем маркером, чтобы после остановки центрифуги их не перепутать. Для правильной эксплуатации центрифуги необходимо соблюдать правило креста (или центровки). На панели центрифуги выставляем время вращения 5 мин (против часовой стрелки) и частоту вращения 1000 обор/минуту. Запускаем центрифугу, постепенно наращивая обороты. После полной остановки центрифуги с помощью линейки измеряем высоту осадка и фугата (в мм) в каждой пробирке, а результаты записываем в табл. 2.10.

Таблица 2.10

Результаты экспериментальных данных

Концентрация суспензии, %	n, обор/мин	Высота осадка, мм			Высота фугата, мм		
		1 про-ба	2 про-ба	средняя	1 про-ба	2 про-ба	средняя
2	1000						
2	3000						
6	1000						
6	3000						

Подготавливаем пробирки, снова заливаем по 10 мл суспензии в соответствии с вышеуказанным описанием, затем выставляем частоту вращения центрифуги на 3000 обор/мин и повторяем эксперимент. По окончании снова фиксируем высоту осадка и фугата в пробирках. Результаты эксперимента заносим в табл. 2.10.

Обработка результатов

К основным техническим характеристикам центрифугирования относятся:

1. Фактор разделения (K_p):

$$K_p = \frac{r \cdot n^2}{900}, \quad (2.40)$$

где r – радиус вращения (10 см), м; n – частота вращения, обор/мин (1000 и 3000 обор/мин).

2. Скорость осаднения (W_{oc}):

$$W_{oc} \left(\frac{м}{с} \right) = \frac{d_{в-ва} \cdot (\rho_{в-ва} - \rho_{среды})}{\mu_{среды}} \cdot K_p, \quad (2.41)$$

где $d_{в-ва}$ – дисперсность твердых частиц ($d = 1$ мм), м; $\rho_{в-ва}$ – плотность твердых частиц (плотность мела = 2200 кг/м³); $\rho_{среды}$ – плотность среды (плотность воды при 20 °С = 1000 кг/м³); $\mu_{среды}$ – динамическая вязкость среды (μ воды при 20 °С = $1 \cdot 10^{-3}$ Па·с).

3. Производительность по осадку (V_{oc}):

$$V_{oc} \left(\frac{м^3}{с} \right) = \frac{3,5 \cdot D_{min}^2 \cdot h_{ос\ сред} \cdot (\rho_{в-ва} - \rho_{сред}) \cdot d^2 \cdot n^2}{\mu_{среды}}, \quad (2.42)$$

где D_{min} – диаметр пробирки в месте нахождения осадка (6 мм), м; $h_{ос\ сред.}$ – средняя высота осадка (берется по экспериментальным данным), м.

4. Производительность по фугату ($V_{фуг}$):

$$V_{фуг} \left(\frac{м^3}{с} \right) = \frac{3,5 \cdot D_{max}^2 \cdot h_{фуг\ сред} \cdot (\rho_{в-ва} - \rho_{сред}) \cdot d^2 \cdot n^2}{\mu_{среды}}, \quad (2.43)$$

где D_{max} – диаметр пробирки в месте нахождения фугата (12 мм), м; $h_{фуг\ сред.}$ – средняя высота фугата (берется по экспериментальным данным), м.

Все вычисления производим в системе СИ и полученные результаты сводим в табл. 2.10.

Таблица 2.11

Результаты анализа

Концентрация суспензии, %	n , обор/мин	K_p	W_{oc} , м/с	V_{oc} , м ³ /с	$V_{фуг}$, м ³ /с
2	1000				
2	3000				
6	1000				
6	3000				

Выводы.

1. Сравниваем между собой разделение 2%-й меловой суспензии разными методами (отстаиванием, фильтрованием, центрифугированием). Делаем выводы об эффективности каждого метода.

2. Оцениваем эффективность фильтрования при атмосферном давлении и под вакуумом.

3. По рассчитанным характеристикам оцениваем эффективность метода центрифугирования в зависимости от частоты вращения вала (1000 и 3000 об/мин) и концентрации (2 и 6 %) меловой суспензии.

Лабораторная работа № 21. Очистка питьевой воды методом адсорбции

Адсорбцией называется процесс поглощения растворенных веществ из растворов (питьевых и сточных вод) поглотителями – адсорбентами. Явление адсорбции связано с наличием сил притяжения между молекулами адсорбента и поглощаемого вещества – *адсорбтива*.

Основными характеристиками процесса адсорбции являются избирательность и обратимость. При определенных условиях возможно выделение поглощенного вещества из адсорбента. Такой процесс называется *десорбцией*, а по отношению к адсорбенту регенерацией его.

Адсорбцию применяют для очистки питьевой воды, глубокой очистки сточных вод от растворенных органических веществ и газов, ароматических нитросоединений, красителей, поверхностно-активных веществ и др. Особенно эффективна адсорбция при очистке сточных вод, извлечении из них ценных растворенных веществ и повторном использовании очищенной сточной воды.

В качестве сорбентов используют различные природные и синтетические твердые пористые материалы: активированные угли различных марок, силикагели, цеолиты, торф, глины, а также некоторые отходы производства – шлаки, зола, опилки, кора и лигнин.

Наиболее универсальными из адсорбентов являются активированные угли, сырьем для которых являются уголь, древесина, кости животных, отходы целлюлозно-бумажной, пищевой и других отраслей промышленности. Удельная поверхность сорбентов составляет от 20 до 2000 м²/г, размер пор от 0,002 до 2,0 мкм.

Адсорбенты характеризуются поглотительной или адсорбционной способностью, которая определяется количеством поглощенного адсорбтива в единице массы или объема адсорбента (г/кг или кг/м³). Максимально возможная при данных условиях поглотительная способность адсорбента называется равновесной статической емкостью.

Зависимость между равновесными концентрациями поглощенного вещества в твердой и жидкой фазах описывается изотермами адсорбции.

Скорость процесса адсорбции зависит от концентрации, природы и структуры растворенных веществ, температуры воды, вида и свойств адсорбентов.

Процесс адсорбции складывается из трех стадий:

- 1) переноса вещества из сточной воды к поверхности адсорбента (внешняя диффузия);
- 2) диффузии вещества внутри адсорбента (внутренняя диффузия);
- 3) адсорбции на поверхности пор.

Последняя стадия проходит очень быстро. Поэтому лимитирующей стадией процесса обычно является либо первая, либо вторая стадия. Процесс адсорбционной очистки сточной воды осуществляют в аппаратах периодического или непрерывного действия. В аппаратах периодического действия сточную воду фильтруют через неподвижный слой гранулированного угля или другого сорбента до проскока извлекаемого вещества в фильтрат. После этого фильтрацию прекращают, из адсорбера сливают воду, а адсорбент регенерируют обработкой водяным паром, нагретыми инертными газами, органическими растворителями или водными растворами химических реагентов.

Выбор схемы адсорбционной очистки определяется характером производства, качественным составом сточных вод, требованиями, предъявляемыми к очищенным водам, и наличием других очистных сооружений.

Ионообменной сорбцией называется процесс обмена ионами, находящимися в растворе, и ионами функциональных групп твердой фазы – ионита. Ионообменная очистка применяется для извлечения из сточных вод металлов (цинка, меди, хрома, никеля, свинца, ртути и др.), а также соединения мышьяка, фосфора, цианистых соединений и радиоактивных веществ. Метод позволяет рекуперировать ценные вещества при высокой степени очистки сточных вод. Этот метод широко применяется для умягчения и обессоливания воды в процессе водоподготовки и с целью повторного использования.

Ионообменные сорбенты – иониты практически нерастворимы в воде. В качестве ионитов используются как природные, так и полученные искусственным путем вещества.

К неорганическим природным и синтетическим ионитам относятся цеолиты, полевые шпаты, силикагели, гидроксиды некоторых металлов.

Органические природные иониты – это гуминовые кислоты почв, но они применяются сравнительно мало из-за небольшой химической и механической прочности, малой емкости.

При очистке сточных вод наибольшее практическое применение нашли органические искусственные иониты – синтетические ионообменные смолы, представляющие собой высокомолекулярные соединения.

Углеводородные радикалы образуют пространственный каркас, называемый **матрицей**. На матрице фиксированы, неподвижны функциональные группы, связанные с противоположно заряженными по-

движными ионами (противоионами). Противоионы могут обмениваться на ионы из раствора (сточной воды) с тем же зарядом.

По знаку заряда обменивающихся ионов иониты делят на катиониты и аниониты. Катиониты обмениваются с растворами электролитов положительными ионами, аниониты – отрицательными ионами.

Важнейшим свойством ионитов является их **поглощительная способность** (обменная емкость). Она определяется количеством грамм-эквивалентов ионов, поглощаемых единицей массы или объема ионита.

Иониты выпускают в виде порошка с размером частиц 0,04–0,07 мм, зерен размером 0,2–2,0 мм, волокнистых материалов, листов и плиток.

После исчерпания в процессе обменной емкости ионита его регенерируют, обрабатывая растворами кислот, щелочей или солей.

Регенерация – это ионообменный процесс, проходящий в обратном направлении по отношению к основному рабочему процессу. Раствор, полученный при регенерации, называется **элюатом**.

Процесс ионного обмена, который включает чередующиеся стадии сорбции и регенерации ионитов, осуществляется в аппаратах периодического или непрерывного действия. В напорном фильтре периодического действия высота слоя ионита составляет 1,5–2,5 м. Регенерация катионитов осуществляется промывкой кислотой или раствором поваренной соли.

Оборудование и материалы

1. Для определения степени очистки водопроводной воды от нежелательных примесей (железа, активного хлора, тяжелых металлов, взвешенных веществ, нитритов, нитратов, солей жесткости и др.) используют разнообразные очистные устройства (водоочистители). Для этих целей в данной работе используем фильтр-кувшин периодического действия типа «Гейзер-Грифон», в комплекте к которому прилагаются два сменных картриджа:

– «универсальный» для комплексной очистки воды любого типа, в том числе с высоким содержанием железа;

– картридж для «жесткой» воды – для умягчения воды с высоким содержанием минеральных солей (CaCO_3 , $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$, MgCO_3 , $\text{Mg}(\text{HCO}_3)_2$, CaCl_2 , MgCl_2 , CaSO_4 , MgSO_4) [Муравьев А.Г., 2004].

Уникальные фильтрующие материалы, являющиеся составными частями картриджей, обеспечивают высокую эффективность очистки питьевой воды (95–100 %).

2. Фильтр-кувшин для доочистки питьевой воды.

3. Тест комплекты: «Железо», «Нитраты», «Нитриты».

Примечание. Для выполнения работы возможно использование и других приборов для очистки воды, содержащих сорбенты. При отсутствии соответствующих тест-комплектов можно применить стандартные

методики определения железа, нитратов, нитритов, солей жесткости и других ингредиентов [Муравьев А.Г., 2018; Прожорина Т.И., 2006, ч. 1, 2007., ч. 2]. Перечень определяемых компонентов можно заменить или дополнить.

Целью работы является изучение адсорбционного метода очистки питьевой воды.

Эксплуатация водоочистителя

Перед началом эксплуатации фильтра пропустить через него 1–2 л воды с целью удаления пыли на картридже. Затем набрать новую порцию воды. После того как вода профильтруется и соберется в емкости кувшина, отбирают пробу воды в объеме 500 мл и проводят анализ на содержание железа, нитратов, нитритов, солей жесткости в исходной и очищенной воде, используя тест-комплекты на соответствующие примеси.

Контроль содержания химических веществ

Содержание железа, нитратов, нитритов в исходной и очищенной воде определяют, используя тест-комплекты на соответствующие примеси.

Расчет эффективности очистки воды

Расчет эффективности очистки воды для каждого из определяемых ингредиентов производится по формуле (2.44)

$$\mathcal{E} = \frac{C_{\text{н}} - C_{\text{к}}}{C_{\text{н}}} \cdot 100 \%, \quad (2.44)$$

где $C_{\text{н}}$ – концентрация загрязняющего вещества в исходной воде; $C_{\text{к}}$ – концентрация загрязняющего вещества в очищенной воде.

Для сравнительной оценки эффективности очистки и качества питьевой воды используются величины ПДК ГОСТ 2874-82 «Вода питьевая» (приложение 1).

Умягчение воды

Заменить «универсальный» картридж на картридж для «жесткой» воды и, используя питьевую воду до и после очистки, провести анализ на определение общей жесткости воды, рассчитать эффективность очистки питьевой воды от минеральных солей. Определение общей жесткости приведено в разделе в работе № 12.

Найденные фактические значения нитритов, нитратов, железа, общей жесткости и др. показателей в исследуемой воде до и после фильтрования сравнить с соответствующими нормативами, используя приложение 1. Сделать выводы о качестве исследуемой воды до и после очистки, а также об эффективности работы фильтра по определяемым показателям.

Лабораторная работа № 22. Обесцвечивание сточных вод методами коагуляции и флокуляции

Одним из распространенных методов очистки промышленных сточных вод от взвешенных веществ с малым размером частиц (от $1 \cdot 10^{-10}$ до $2,1 \cdot 10^{-8}$ м) является обработка их коагулянтами и флокулянтами.

Коагуляция – это процесс укрупнения дисперсных частиц за счет их взаимодействия и объединения в агрегаты. Коагуляция заключается в том, что в воду вводят вещество, которое может нейтрализовать обычно присутствующие в воде отрицательно заряженные коллоидные частицы загрязнений и интенсифицировать процесс осаждения. Это вещество называется **коагулянтом**.

В результате коагуляции устраняются мутность и цветность воды, может снижаться интенсивность привкусов и запахов.

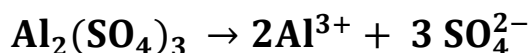
На первом этапе после введения коагулянта в очищаемую воду происходит гидролиз его с образованием мицелл, т.е. агрегатов молекул, атомов, ионов, из которых состоит коллоидная система, и последующим агрегированием в более крупные частицы. Этот период называется скрытой коагуляцией.

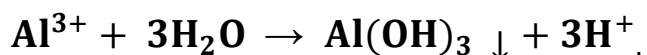
Затем начинается период построения цепочных структур и образования огромного количества мельчайших хлопьев, которые агрегируются в более крупные хлопья и, достигнув определенных разделов, оседают под действие силы тяжести. Наступает стадия седиментации. В действительности эти этапы не следуют строго друг за другом, а перекрываются, осложняя процесс осветления.

Необходимыми и достаточными условиями успешного осветления воды являются обволакивание частиц взвеси продуктами гидролиза коагулянта для обеспечения их слипания при столкновениях и накопление достаточно большого количества твердой фазы для построения хлопьев коагулированной взвеси, отвечающих по своим свойствам технологическим требованиям.

Для очистки сточных вод наиболее широко применяются коагулянты на основе солей алюминия или железа. В некоторых случаях используют синтетические вещества, такие как катионные полиэлектролиты. Действие солей металлов состоит в нейтрализации катионом металла отрицательного заряда коллоидных частиц, присутствующих в воде.

При добавлении в воду коагулянта, например сульфата алюминия, происходит диссоциация реагента с последующим гидролизом металла. Диссоциация сульфата алюминия и суммарный результат гидролиза в нейтральной среде может быть описан в уравнении:





Образующийся гидроксид алюминия является коллоидом, малорастворимым веществом, который в нейтральной среде приобретает небольшой положительный заряд в результате адсорбции ионов H^+ и Al^{3+} . В щелочной среде гидроксид заряжен отрицательно в результате адсорбции ионов AlO_2^- . Коллоиды $\text{Al}(\text{OH})_3$ коагулируются, образуя микрохлопья. Данный кратковременный процесс происходит в смесителях, и этим заканчивается первая фаза коагуляции. Во второй фазе, которая в свободном объеме воды может длиться до 60 мин, происходит агрегация микрохлопьев. При этом микрохлопья адсорбируют на свою поверхность коллоидные частицы и могут сами адсорбироваться на поверхность грубодисперсных примесей (взвешенных веществ). Процесс происходит в камерах хлопьеобразования в условиях умеренного перемешивания воды и заканчивается образованием крупных хлопьев. Удаление хлопьев из воды происходит в отстойниках, флотационных установках или фильтрах.

Так как основной целью введения коагулянта является нейтрализация коллоидных частиц загрязнений, важно распределить реагент в воде настолько возможно быстро.

Действительно, продолжительность первой фазы коагуляции мала, и наилучшие результаты достигаются при условии, когда коллоидные частицы полностью нейтрализованы перед тем, как часть коагулянта начнет образовывать осадок (например, в форме гидроксида металла).

Существенной особенностью использования процесса коагуляции является очистка воды не только от грубодисперсных и коллоидных загрязнений, но и частично от растворенных примесей, в том числе красителей. Установлено, что обработкой воды коагулянтами можно устранить до 80–90 % веществ, обуславливающих цветность.

Для очистки цветных и высокомутных вод наибольшее применение из коагулянтов получил сернокислый алюминий $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, обладающий такими достоинствами, как относительно низкая стоимость, хорошая растворимость и отсутствие особых требований к обращению продуктом с сухим и растворенным.

Частицы свежеформированного аморфного гидроксида алюминия, имеющие высокую пористость и сохраняющие развитую поверхность, по крайней мере, в течение нескольких часов коагулируют с образованием хлопьев небольшого размера, которые вместе с веществами, загрязняющими воду, осаждаются, и таким образом ее очищают. При этом водорастворимые примеси, в том числе красители, адсорбируются на частицах $\text{Al}(\text{OH})_3$.

Для увеличения размера хлопьев и ускорения их осаждения используют флокулянты, наиболее распространенным из которых является

полиакриламид (ПАА). Однако в настоящее время для этих целей успешно применяются и другие более эффективные флокулянты. Например, флокулянт **Praestol** (Праестол) – продукция совместного российско-германского производства ЗАО «Компания «Москва - Штокхаузен - Пермь»; флокулянты **Zetag** (Зетаг) или **Magnafloc** (Магнафлок) – продукты производства швейцарской фирмы Ciba Specialty Chemicals; продукт серии **Floerger™ AN 900** – анионный полиакриламид – предприятие-изготовитель компания «SNF FLOERGER» (Франция) и другие.

В процессе флокуляции макромолекулы флокулянта связываются мостиками с коллоидными частицами с образованием достаточно крупных, осаждающихся с большой скоростью агрегатов.

Целью работы является изучение коагуляции и флокуляции как методов очистки и обесцвечивания сточных вод [Муравьев А.Г., 2018].

Выполнение работы возможно с применением тест-комплектов, готовых компонентов и принадлежностей производства ЗАО «Крисмас+». Подробная информация представлена в приложении.

Оборудование и материалы

1. Лабораторная установка для демонстрации: «Обесцвечивание сточных вод коагуляцией и флокуляцией» состоит из цилиндра на 500 мл (высота примерно 360 мм, диаметр примерно 46 мм) и мешалки (диаметр мешалки равен диаметру цилиндра минус 6 мм, значит примерно 40 мм, высота мешалки равна высоте цилиндра плюс 50 мм, в результате примерно 410 мм, 6 отверстий диаметром 4 мм).

2. Раствор гидроксида натрия концентрацией 1 моль/л.

3. Кислотный краситель – зеленый антрахиноновый 2,5%-й раствор.

4. Мешалка.

5. Пипетки на 1, 5 и 10 мл.

6. Полиакриламид, 0,1%-й раствор.

7. Пробирка на 10 мл с меткой «5» для колориметрирования.

8. Воронка диаметром 50–80 мм.

9. Пробирки на 10 мл для приготовления шкалы образцов окраски или пленочная шкала образцов окраски «Кислотный зеленый краситель» (5–50 мг/л).

10. Сульфат алюминия, 10%-й раствор.

11. Фильтры «синяя лента».

12. Цилиндр на 500 мл.

13. Стакан на 50 мл.

Ход анализа

Очистка воды коагуляцией и флокуляцией

В настоящей работе метод коагуляции с последующей флокуляцией изучается применительно к очистке сточной воды от кислотного зеленого антрахинонового красителя.

1. В цилиндр налейте 200–300 мл водопроводной воды, добавьте из склянки с раствором красителя пипеткой 1 мл красителя, доведите водой до метки (500 мл). Перемешайте до получения равномерно окрашенного раствора (концентрация красителя в растворе составит 50 мг/л).

2. В этот раствор пипеткой введите 1,0 мл раствора NaOH (1 моль/л), перемешайте и добавьте пипеткой 1,5 мл раствора сульфата алюминия $Al_2(SO_4)_3$ и интенсивно перемешивайте в течение 2 мин, поднимая и опуская мешалку. При этом в растворе появляются мелкие хлопья продуктов гидролиза $Al_2(SO_4)_3$, а интенсивность окраски уменьшается.

3. Далее в цилиндр пипеткой добавьте 2 мл раствора ПАА и медленно перемешивайте, поднимая и опуская мешалку в течение 1 мин.

4. Оставьте систему в покое на 15–20 мин, наблюдая за образованием достаточно крупных, постепенно осаждающихся хлопьев.

Контроль полноты очистки

1. Через 15–20 минут пипеткой отберите 10–20 мл воды из верхней части цилиндра с наименьшим содержанием твердой фазы, отфильтруйте в стеклянный стакан через бумажный фильтр, собирая обесцвеченную воду в стакане.

2. Колориметрическую пробирку сполосните несколько раз обесцвеченной водой, налейте в нее до метки обесцвеченную воду (5 мл) и сравните окраску воды с контрольной шкалой, выбирая ближайший по характеру окраски образец шкалы. Окраску наблюдайте сбоку при достаточном освещении.

Результат анализа представляйте в виде: «*близко к концентрации красителя*__ мг/л».

В случае окраски пробы, соответствующей промежуточной окраске образцов, результат анализа представляйте в виде: «*концентрация красителя от*__ *до*__ мг/л».

При необходимости повторите определение, сделайте вывод об эффективности обесцвечивания воды.

Оценка эффективности очистки

Эффективность обесцвечивания определяется по величине степени очистки по формуле (2.45)

$$\Xi = \frac{C_n - C_k}{C_n} \cdot 100 \% , \quad (2.45)$$

где C_n и C_k – содержание красителя до и после очистки, мг/л.

После проведения опыта цилиндр, мешалку, пипетки, воронку, стакан и колориметрическую пробирку промойте чистой водой, а склянки с растворами красителя, $Al_2(SO_4)_3$, NaOH, ПАА герметично закройте.

Примечание. Для сравнения в работе кроме ПАА можно использовать несколько марок различных флокулянтов, перечисленных выше.

А также можно расширить перечень контролируемых параметров и помимо эффективности обесцвечивания, например, фиксировать время осаждения флокул, высоту осадка, оптическую плотность осветленной жидкости и др.

Лабораторная работа № 23. Электрокоагуляционный метод очистки вод

Загрязнение источников пресной воды различными веществами, содержащимися в промышленных сточных водах, на современном этапе развития производства является одной из серьезнейших проблем. Различные органические вещества – нефтепродукты, синтетические красители и др., широко применяемые в различных областях промышленности, могут оказывать негативное воздействие на экосистемы природных водоемов. Поэтому проведение эффективной очистки сточных вод от антропогенных загрязнителей представляет собой очень важную задачу.

Внедрение систем глубокой очистки сточных вод, включающих наиболее эффективные процессы и аппараты, может создать условия для существенного сокращения сброса сточных вод в объекты окружающей среды и создания систем оборотного водоснабжения. Такие системы позволяют значительно сократить потребление воды для производства.

Коагуляционные методы очистки сточных вод применяются для удаления из стоков широкого спектра загрязнений. Химическая коагуляция основана на добавлении особого химического реагента – коагулянта – в сточную воду. В качестве коагулянтов обычно применяют соли железа, алюминия и некоторых других металлов. Для корректировки pH среды до значения, оптимального для прохождения гидролиза соли, в воду вводят растворы кислот или щелочей. В результате гидролиза солей в сточной воде образуются золи гидроксидов, которые формируют хлопья твердой фазы, выделяемые из системы отстаиванием или другими методами. Очистка от растворенных веществ осуществляется за счет их адсорбции на поверхности хлопьев гидроксидов.

При электрокоагуляции свежий гидроксид образуется в результате растворения материала анода. Это происходит при пропускании через раствор электролита, которым является сточная вода, постоянного электрического тока с напряжением 1,5–2,5 В. В качестве растворимых анодов используют пластины алюминия, железа, а также различные сплавы. В ходе процесса на катоде обычно происходит выделение пузырьков водорода, которые поднимают образовавшиеся хлопья гидроксида на поверхность очищаемой жидкости в виде пены по принципу флотации.

В случае использования железного растворимого анода, в системе будут происходить следующие реакции:

на аноде: $\text{Fe}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_2 \downarrow + 2\text{H}^+$

на катоде: $2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow 2\text{H} \rightarrow \text{H}_2 \uparrow$.

Достоинства процесса

1. При электрокоагуляции отсутствует необходимость внесения в систему дополнительных реагентов, что уменьшает солесодержание очищенной воды по сравнению с солевой коагуляцией и тем самым уменьшает нагрузку на водоемы – приемники сточных вод.

2. Частицы гидроксидов, образующиеся при электрокоагуляции, обладают повышенной сорбционной способностью, что увеличивает эффективность очистки по сравнению с обычной коагуляцией.

Недостатки процесса

1. Большой расход электроэнергии.

2. Растворение анода.

Изучение электрокоагуляционного метода очистки воды на примере ее осветления с визуальным контролем концентрации красителя в модельном растворе сточной воды [Муравьев А.Г., 2004].

Оборудование и материалы

1. Установка электрохимической очистки воды «Водолей-Мини (Нео-Аквалон)». Она состоит из блока питания, электродной кассеты и емкости с фильтровальным элементом.

Установка «Водолей-Мини» очищает питьевую некипяченую воду от вредных примесей посредством электрохимической коагуляции с последующим фильтрованием. Она существенно улучшает потребительские свойства воды (прозрачность, цветность, вкус, запах), удаляет соли тяжелых металлов, радионуклиды, органические примеси (нефтепродукты, ПАВ, хлорорганические соединения). Схема установки «Водолей-Мини» (Нео-Аквалон) представлена на рис. 2.11.

Поскольку загрязнения в каждом цикле обработки удаляются в сброс, качество очищенной воды остается неизменным в течение всего периода эксплуатации установки. Получаемая вода обладает положительной биологической активностью (как талая вода), не портится длительное время при хранении.

В отличие от сорбционных технологий «Водолей-Мини» не накапливает в себе загрязнений. В отличие от установок с мембранной технологией – сохраняет солевой состав воды, не выводит из нее жизненно важных соединений калия, кальция, натрия, магния.

2. Раствор красителя кислотного синего, концентрация 10 г/л.

3. Пробирки со штативом (либо цветная шкала) для визуального определения концентрации раствора красителя.

4. Пипетки на 10 мл.

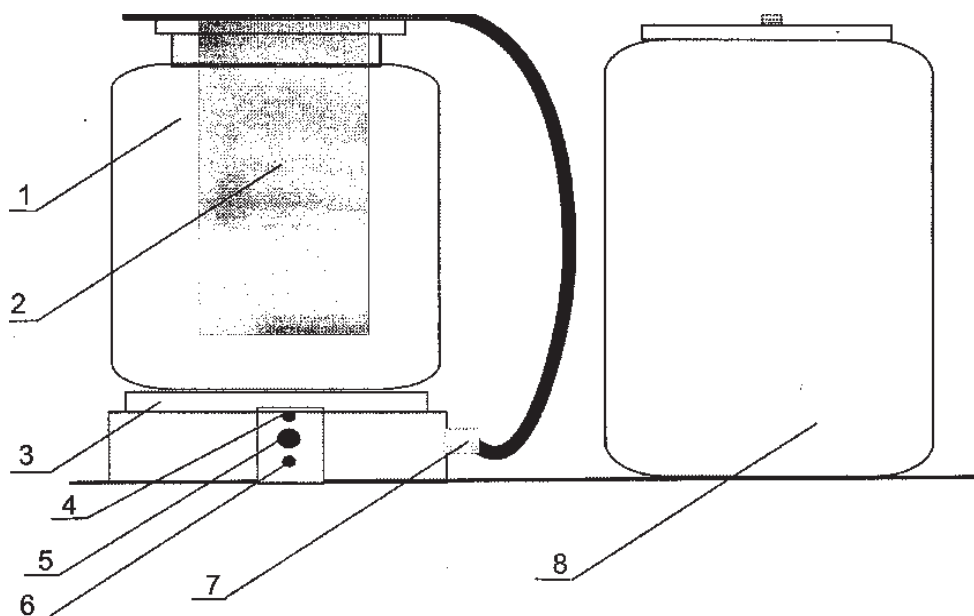


Рис. 2.11. Схема лабораторной установки:

1 – пластмассовая емкость объем 3 л; 2 – электродная кассета; 3 – блок питания; 4 – зеленый светодиод «РАБОТА»; 5 – кнопка «ПУСК»; 6 – красный индикатор «ПИТАНИЕ»; 7 – гнездо для подсоединения разъема блока электродов; 8 – емкость с фильтровальным элементом

5. стаканы химический на 50 мл.

6. Мешалка металлическая.

7. Воронка стеклянная.

8. Фильтры бумажные.

Ход анализа

1. Налейте воду в пластмассовую емкость установки (либо в 3 литровую стеклянную банку) ниже края горловины на 4 см.

2. Опустите электроды в банку с водой.

3. Вставьте вилку сетевого шнура в розетку сети переменного тока напряжением 220 В. При этом на лицевой панели источника питания загорится **красный** индикатор, сигнализирующий о подаче напряжения.

4. Разъем блока электродов вставьте в ответное гнездо на блоке питания.

5. Нажмите кнопку «ПУСК». На лицевой панели источника питания загорится светодиод **зеленого** цвета, который будет светить в течение всего времени обработки, т.е. 5 мин.

При нормальном процессе обработки воды происходит подъем пузырьков газа между электродами. Если светодиод не светится, то проверьте электрическую цепь на участке блок питания – блок электродов.

Кроме того, возможно образование оксидной пленки на алюминиевом электроде. В этом случае надо откинуть крышку держателя электродов, достать внутренний алюминиевый электрод и очистить его от пленки.

6. Выньте электроды из банки с обработанной водой.

Металлическим предметом, например ложкой, быстрыми круговыми движениями размешайте воду до появления на поверхности устойчивой воронки. Затем долейте необработанной воды до верхнего уровня горловины банки.

Примечание. Не задерживайтесь с выполнением этой процедуры и выполняйте ее сразу после того, как погаснет **зеленый** светодиод.

7. После того как образовавшийся шлам соберется в горловине банки (не менее чем через 15 мин), удалите его ложкой или слейте, наклонив банку над раковиной.

8. После удаления шлама профильтруйте воду через фильтр, установив его на другую 3 литровую стеклянную банку или любую емкость, в которой Вы будете хранить очищенную воду.

9. После фильтрования процесс очистки воды будет окончен.

Внимание! Своевременная очистка электродов гарантирует качество очищаемой воды.

Изучение электрокоагуляционного метода очистки сточной воды на примере ее осветления с визуальным контролем концентрации красителя в модельном растворе

Ход анализа

Для наглядности процесса электрокоагуляционной очистки воды и простоты контроля его эффективности в работе, в качестве модели очищаемой используется раствор красителя.

1. В емкость для проведения процесса пипеткой отберите 15 мл раствора красителя кислотного синего (10 г/л) и долейте воды до 3 л.

2. Поместите электроды в емкость с водой. Проведите обработку воды (см. п. 3 – 9 раздела «Порядок работы на приборе»).

3. 10 мл обработанной воды поместите в чистую пробирку. Путем визуального сравнения окраски очищенного раствора в пробирке с растворами из стандартной серии разведений (или с цветной шкалой образцов окраски) определите концентрацию красителя в очищенном растворе.

Расчет

По полученному значению концентрации красителя в растворе рассчитайте степень очистки воды по формуле (2.46)

$$\alpha = 1 - \frac{C_x}{50} , \quad (2.46)$$

где α – степень очистки; C_x – концентрация красителя в растворе после очистки, мг/л; 50 – концентрация красителя в растворе до очистки, мг/л.

Лабораторная работа № 24. Гравиметрическое определение взвешенных веществ в природных водах

Для определения взвешенных веществ хорошо взбалтывают исследуемую пробу, цилиндром отбирают из нее 100 мл воды и фильтруют ее через складчатый фильтр. Полученный на фильтре осадок высушивают в сушильном шкафу при температуре 105 °С до постоянного веса, затем охлаждают до комнатной температуры. Количество взвешенных веществ проводят по формуле (2.47)

$$X\left(\frac{\text{мг}}{\text{л}}\right) = \frac{(A_1 - A_2) \cdot 1000}{V}, \quad (2.47)$$

где A_1 – вес фильтра с высушенным после фильтрования осадком, мг; A_2 – вес чистого фильтра, мг; V – объем пробы, взятой для исследования, мл; 1000 – перевод на литр.

Лабораторная работа № 25. Фотоколориметрическое определение железа общего в водах с сульфосалициловой кислотой

В поверхностных водах Fe (II) содержится в виде гуминовокислого железа, в подземных – главным образом в виде бикарбоната железа $\text{Fe}(\text{HCO}_3)_2$. При контакте подземной воды с воздухом бикарбонат окисляется с образованием бурых хлопьев $\text{Fe}(\text{OH})_3$, придающих воде мутность и окраску, если содержание железа больше 0,5 мг/л.

При содержании железа больше 1 мг/л вода приобретает вяжущий привкус, ухудшаются органолептические свойства воды, она становится непригодной к употреблению и в быту и в промышленности. При этом начинают усиленно размножаться железоусваивающие микроорганизмы, в результате уменьшается просвет водопроводных труб, а отрыв отложений со стенок ухудшает вид и вкус воды. ПДК железа для питьевой воды 0,3 мг/л. Железо в больших количествах встречается в сточных водах травильных цехов, в сточных водах от крашения тканей и т.д.

Пробы для определения железа не требуют консервации. Метод основан на том, что сульфосалициловая кислота в щелочной среде ($\text{pH} = 8-11,5$) образует с солями железа (II и III) окрашенные в желтый цвет комплексные соединения.

Интенсивность окраски образующихся комплексов пропорциональна концентрации железа в растворе. Ее измеряют на фотоколориметре и по величине оптической плотности определяют концентрацию железа. Определению мешают окраска и высокое содержание органических веществ.

Выполнение работы возможно с применением тест-комплектов, готовых компонентов и принадлежностей производства ЗАО «Крисмас+». Подробная информация представлена в приложении.

Оборудование и материалы

1. Сульфосалициловая кислота, 10%-й раствор.
2. Аммиак, 10% водный раствор (2 : 3). Смешивают 200 мл 25%-го раствора NH_4OH с 300 мл дистиллированной воды.
3. Серная кислота, ч.д.а. пл. 1,84 г/мл.
4. Азотная кислота, х.ч.
5. Стандартный раствор железа (железоаммонийные квасцы) 0,8634 г растворяют в дистиллированной воде. Прибавляют к раствору 10 мл конц. H_2SO_4 и разбавляют в мерной колбе на 1 литр, отбирают 100 мл полученного раствора, разбавляют водой в мерной колбе снова до 1 л, в 1 мл рабочего стандартного раствора содержится 0,01 мг железа.

Ход анализа

1. Определение железа в сточной воде.

При определении $\text{Fe}_{\text{общ}}$ анализируемая проба энергично взбалтывается, операция фильтрования должна быть исключена. Если проба окрашена или содержит значительное количество органических веществ, их мешающее влияние устраняют в результате минерализации, которую проводят так: в стакан из термостойкого стекла на 150–200 мл помещают объем воды содержащей от 0,01 до 0,1 мг Fe, добавляют 2 мл концентрированной H_2SO_4 и выпаривают жидкость на песчаной бане (или электрическая плитка с закрытым подогревом на асбесте) до выделения густых белых паров H_2SO_4 . Не прекращая нагрева, вводят в стакан 2-3 капли концентрированной H_2SO_4 , после чего окрашенная жидкость становится бесцветной и прозрачной. Обработанную пробу количественно переносят в мерную колбу на 100 мл, обмывают стенки стакана несколько раз дистиллированной водой и промывные воды сливают в эту же мерную колбу. Вводят в колбу 5 мл 10%-го раствора сульфосалициловой кислоты и затем нейтрализуют 10%-м раствором аммиака, прибавляя его в избытке. Для нейтрализации 2 мл концентрированной H_2SO_4 необходимо 15–20 мл аммиака. Необходимо убедиться, что аммиак прибавлен в избытке, на что указывает пожелтение раствора и аммиачный запах. После охлаждения содержимое колбы доводят до метки, тщательно перемешивают и через 10 минут после прибавления аммиака измеряют оптическую плотность. Содержание железа находят по калибровочному графику.

2. Определение железа в питьевой воде

В колориметрические пробирки (на 25–30 мл) вносят 10 мл пробы, прибавляют 5 мл раствора сульфосалициловой кислоты и 5 мл раствора аммиака (2:3). Перемешивают и измеряют оптическую плотность при длине волны $\lambda = 420\text{--}430$ нм по отношению к холостому раствору. Содер-

железа находят по калибровочному графику, для построения которого в пробирки наливается 0,1; 0,3; 0,5; 0,6; 0,8 и 1 мл рабочего стандартного раствора, разбавляется раствор в каждой пробирке до 10 мл дистиллированной водой и продолжается дальше, как при анализе пробы. По результатам работы строится таблица 2.12 и калибровочный график.

Таблица 2.12

Результаты анализа

№ стандартного раствора	Объем стандартного раствора, мл	Содержание железа в 10 мл раствора	Оптическая плотность раствора
1	0,1	0,001	Д ₁
2	0,3	0,003	Д ₂
3	0,5	0,005	Д ₃
4	0,6	0,006	Д ₄
5	0,8	0,008	Д ₅
6	1,0	0,1	Д ₆
Холостая проба	10 мл дистиллированной воды + 5 мл сульфосалициловой кислоты + 5 мл аммиака		
Анализируемая проба			Д _х

Расчет

$$X\left(\frac{\text{мл}}{\text{л}}\right) = \frac{C_x \cdot 1000}{10} = C_x \cdot 100, \quad (2.48)$$

где x – концентрация железа в анализируемой пробе, мг/л; C_x – концентрация железа в 10 мл пробы, найденная по графику; 1000 – пересчет на 1 л.

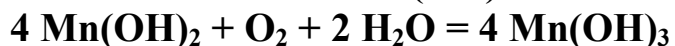
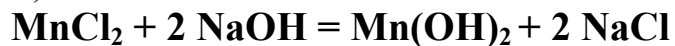
Если содержание железа в анализируемой пробе определяли после минерализации, то результаты рассчитываются по графику, построенному в тех же условиях. Допустимое расхождение между двумя параллельными определениями 5 %.

Лабораторная работа № 26. Определение растворенного кислорода в воде (по Винклеру)

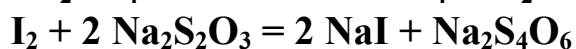
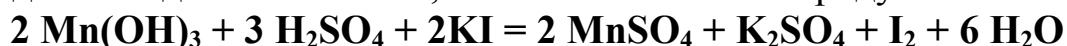
Количество кислорода, растворенного в воде, имеет большое значение для оценки санитарного состояния водоемов. Его снижение указывает на резкое изменение биологических процессов в водоемах, а также на загрязнение водоемов веществами, биохимически интенсивно окисляющимися.

Концентрация растворенного кислорода в воде зависит от природных факторов – атмосферного давления, температуры воды, содержания в ней растворенных солей. В воде водоемов санитарного пользования (1 и 2 категории) в пробе, отобранной до 12 часов дня, его содержание должно быть не менее 4 мг/л в любой период года.

Принцип метода основан на использовании растворенного кислорода, содержащегося в определенном объеме воды, для окисления гидроксида марганца (III).



Гидроксид марганца (III) окисляет в кислой среде KI с образованием свободного йода в количестве, эквивалентном кислороду.



Предел обнаружения растворенного кислорода по этому методу составляет 0,05 мг/л. Определению мешают взвешенные вещества, органические вещества, нитриты, Fe^{2+} и Fe^{3+} и другие окисляющие и восстанавливающие вещества. Их влияние устраняют в ходе анализа.

Выполнение работы возможно с применением тест-комплектов, готовых компонентов и принадлежностей производства ЗАО «Крисмас+». Подробная информация представлена в приложении.

Оборудование и материалы

1. Раствор сульфата или хлорида марганца (II). Растворяют 400 г $\text{MnSO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ (или 480 г $\text{MnSO}_4 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$, или 364 г $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, или 425 г $\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$) в дистиллированной воде и доводят объем до 1 л. Фильтруют через бумажный фильтр. Разбавленный раствор в кислой среде при добавлении KI не должен выделять свободного йода.

2. Щелочной раствор KI:

а) растворяют 150 г KI в 100 мл дистиллированной воды. При подкислении разбавленный раствор не должен выделять йод;

б) растворяют 500 г NaOH или 700 г KOH в 500 мл дистиллированной кипяченой воды (для удаления CO_2). Оба раствора смешивают и доводят объем до 1 л.

3. Серная кислота пл. 1,84 г/л, разбавленный раствор 1:1.

4. Тиосульфат натрия, 0,01 н раствор.

5. Крахмал, 1%-й раствор.

Ход анализа

Пробы воды отбирают в прокаленные стеклянные емкости с притертой пробкой вместимостью 120 мл. Слянки опускают на глубину 0,5 м, вынимают и сразу закрывают пробкой, чтобы под пробкой не образовались пузырьки воздуха.

После этого сразу же на месте отбора фиксируют кислород, для чего в склянку при помощи пипетки на 1 мл, погружая ее до дна, вносят 1 мл раствора MnCl_2 или MnSO_4 . Другой такой пипеткой в верхнюю часть склянки вносят 1 мл щелочного раствора KI . Склянку осторожно закрывают пробкой так, чтобы под пробкой не осталось пузырьков воздуха. При этом из склянки выливается 2 мл исследуемой воды, т.е. столько, сколько налили реактивов. Затем жидкость перемешивают перевертыванием. В таком состоянии оставляют пробы для транспортировки.

Перед титрованием (осадок должен хорошо осесть) приливают 2 мл H_2SO_4 (1:1), часть жидкости переливается через край. При этом раствор H_2SO_4 вносят пипеткой в нижнюю часть склянки. Закрывают склянку пробкой по тем же правилам и перемешивают до растворения осадка $\text{Mn}(\text{OH})_2$.

После этого всю пробу переливают в коническую колбу для титрования вместимостью 250 – 300 мл и быстро титруют 0,01 н раствором тиосульфата натрия при непрерывном помешивании до слабо-желтого цвета, после чего прибавляют 1 мл крахмала и продолжают титровать до исчезновения синей окраски.

Расчет содержания растворенного кислорода в воде x мг/л производят по формуле (2.49)

$$X = \frac{A \cdot N \cdot 8 \cdot 1000}{V_1 - V_2}, \quad (2.49)$$

где A – объем тиосульфата натрия, пошедшего на титрование, мл; N – нормальность тиосульфата натрия с учетом поправки; 8 – эквивалентная масса кислорода, соответствующая 1 мл 1 н раствора тиосульфата натрия; v_1 – объем пробы в склянке, мл; v_1 – объем растворов, добавленных до образования $\text{Mn}(\text{OH})_2$; 1000 – пересчет на 1 л.

Таким образом,

$$X \left(\frac{\text{мг}}{\text{л}} \right) = \frac{A \cdot 0,08 \cdot 1000}{120 - 2} = \frac{A \cdot 80}{118}.$$

Лабораторная работа № 27. Вольтамперометрическое определение ионов тяжелых металлов (Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+}) в воде

Одним из наиболее распространенных загрязнителей окружающей среды являются ионы тяжелых металлов (ТМ). Основным источником загрязнения ТМ являются сточные воды гальванических производств, предприятий по производству источников тока, предприятия черной и цветной металлургии, машиностроительные заводы и др.

Для определения концентраций тяжелых металлов (цинк, кадмий, свинец, медь, серебро, золото, мышьяк, йод, ртуть, платина, палладий,

селен и др.) в различных объектах применяется вольтамперометрический анализатор типа ТА-4. Этот прибор относится к наиболее современным модификациям вольтамперометрических анализаторов и широко используется для массовых анализов в аналитических лабораториях.

Анализатор вольтамперометрический ТА-4 предназначен для измерения массовой концентрации электрохимически активных элементов и веществ при анализе проб различных объектов методами прямой и инверсионной вольтамперометрии. Он представляет собой компьютеризированный прибор со встроенными источниками ультрафиолетового излучения и тремя каналами измерений.

Объектами анализа могут быть: вода, почва, воздух, биологически активные добавки, лекарственные препараты, пищевые продукты, продовольственное сырье, парфюмерия, косметика, аэрозоли, торф, ил, твердые отходы и др.

Метод вольтамперометрического анализа заключается в регистрации и расшифровке зависимости тока, протекающего в цепи электрохимической ячейки, от приложенного к ее электродам поляризующего напряжения. Зависимости тока от приложенного напряжения – вольтамперограмма – позволяет одновременно получить качественную и количественную информацию об элементах восстанавливающихся или окисляющихся на рабочем электроде.

Анализатор конструктивно представляет собой прибор настольного исполнения (рис. 2.12). Анализатор состоит из корпуса (1), внутри которого находится ультрафиолетовый облучатель, крышка (5) с кронштейном (6) для крепления электродов (7).

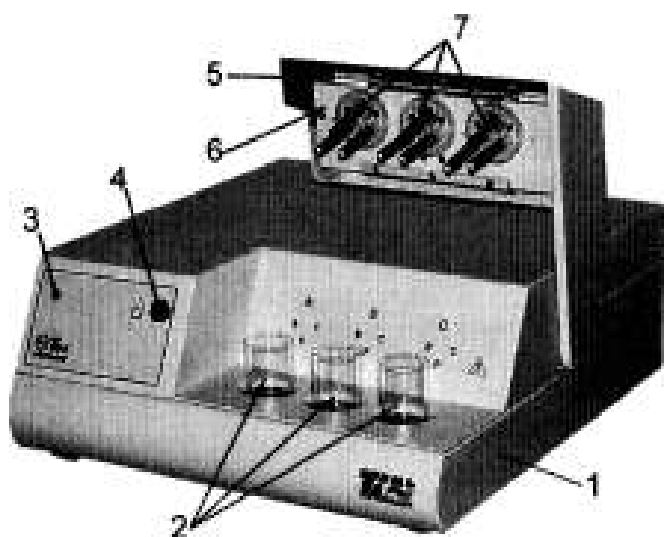


Рис. 2.12. Вольтамперометрический анализатор ТА-4:
1 – корпус; 2 – стаканчики; 3 – индикатор сети; 4 – кнопка управления подъемом электродов; 5 – крышка; 6 – кронштейн для установки электродов; 7 – электроды

Стаканчики (2) с анализируемыми растворами вставляются в специальные гнезда, расположенные под крышкой. На передней панели анализатора находится кнопка (4) подъема и опускания крышки и световой индикатор сетевого питания.

Основные технические характеристики

- диапазон измерений: от $0,4 \cdot 10^{-5}$ до $1,0$ мг/л в воде и от $0,1 \cdot 10^{-3}$ до 100 мг/кг в почве;
- время анализа 3-х подготовленных проб – от 5 до 30 мин;
- габаритные размеры – $310 \times 270 \times 110$ мм;
- масса прибора – 4 кг.

Ход анализа на приборе

1. Отбор пробы. Отобрать около 500 мл водопроводной воды по правилам, указанным в ГОСТ 17.1.5.05.-85. (см. работу № 19).

2. Расчет количества пробы. На 1 пробу необходимо 10 мл воды (так как анализ идет в 3 экземплярах, то всего 30 мл). Анализ воды выполняют в двух повторностях (еще 30 мл), а 3-й опыт – контроль (еще 30 мл). Таким образом, общее количество воды на 1 пробу составляет 90 мл.

3. Подготовка пробы к анализу. Если в сточной воде присутствуют органические вещества, то воду перед анализом необходимо минерализовать, т.е. выпарить с концентрированной азотной кислотой (5 мл кислоты на 1 л воды).

Далее для проведения анализа необходимо добавить в воду концентрированную муравьиную кислоту (НСООН) из расчета 0,2 мл кислоты на 10 мл пробы.

4. Холостой опыт. Проверку фонового раствора, стаканчиков и электродов на чистоту проводят после отмывки электрохимических ячеек. В стаканчики вносят 10–12 мл бидистиллированной воды и добавляют 0,2 мл муравьиной кислоты. Начинают регистрацию вольтамперограмм фона. Стаканчики, фоновый раствор и электролиты считаются чистыми, если на них отсутствуют пики тяжелых металлов.

При анализе природных или питьевых вод в проверенные на чистоту стаканчики наливают по 10 мл пробы, добавляют 0,2 мл НСООН и устанавливают в анализатор.

Работа осуществляется с помощью компьютерной программы VAlabTx по методике «Определение ТМ в воде».

Проводят регистрацию вольтамперограмм пробы. Каждая проба облучается 300 с один раз. При повторной регистрации вольтамперограммы пробы уменьшают время подготовки до 30 с. Регистрируют 2 – 3 воспроизводимые вольтамперограммы. Устанавливают время подготовки 30 с. Выводят на экран таблицу с рекомендуемыми добавками аттестованных смесей. Вносят рекомендуемые добавки в каждую ячейку.

Проводят регистрацию вольтамперограмм с добавкой. Если добавка мала (высоты пиков увеличились менее чем на 50 %), делают еще одну добавку, чтобы пики выросли на 50–150 %. При этом исправляют в таблице параметров добавки объем (концентрацию) на большее значе-

ние с учетом уже сделанной и повторяют регистрацию вольтамперограмм пробы с добавкой. Обработывают полученные вольтамперограммы. Выполняют команду «Расчет».

Расчет

Массовая концентрация каждого элемента в анализируемой пробе вычисляется автоматически по формуле (2.50)

$$X_i = \frac{I_1 \cdot C_d \cdot V_d}{(I_2 - I_1) \cdot V_{пр}} \cdot \frac{V_{мин}}{V_{ал}}, \quad (2.50)$$

где x_i – содержание данного элемента в анализируемой пробе, мг/дм³; C_d – концентрация аттестованной смеси элемента, из которой делается добавка к анализируемой пробе, мг/дм³; V_d – объем добавки аттестованной смеси элемента, см³; I_1 – величина пика элемента в анализируемой пробе, мкА; $V_{мин}$ – объем минерализата, полученного растворением золы в известном объеме растворителя, см³; $V_{ал}$ – объем аликвоты, взятой для анализа из минерализата, см³; I_2 – величина пика элемента в пробе с добавкой аттестованной смеси, мкА; $V_{пр}$ – объем пробы, взятой для анализа, см³.

Если для анализа берется весь объем пробы, без аликвот, то делаем допущение: $V_{мин} = 1$ и $V_{ал} = 1$.

В результате анализа получают три значения концентрации определяемого элемента в исходной пробе [Инверсионная вольтамперметрия, 2008.]. Условно будем считать два из них параллельными, а один – резервным.

Рассчитывают по формуле (2.51) среднее арифметическое результатов двух параллельных определений концентрации X' и X''

$$X = \frac{X' + X''}{2}. \quad (2.51)$$

Задача

1. Ознакомиться с принципом метода вольтамперометрического анализа, устройством и работой прибора.
2. Отобрать водопроводную воду для анализа объемом около 500 мл.
3. С помощью подготовленного специалиста сделать анализ питьевой воды на определение ионов тяжелых металлов (Zn^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Cu^{2+}), используя вольтамперометрический анализатор типа ТА-4.
4. Сравнить фактические концентрации тяжелых металлов, с соответствующими нормативами ПДК для вод хозяйственно-питьевого назначения, используя приложение 1. Сделать выводы.

2.7. Оценка качества почвы

Почва – биокосная система, основанная на динамическом взаимодействии между минеральными компонентами, детритом, детритофагами и почвенными организмами.

Сама почва имеет сложный химический состав, причем содержание органических веществ колеблется от 2 до 20 % в болотистых почвах. Органические вещества подразделяются на негуминовые вещества и гумус. Негуминовые вещества включают не полностью разложившиеся остатки растений и животных, жиры и дубильные вещества, целлюлозу и сахара, легко разлагаемые, и поэтому не попадают под понятие «гумус».

Гумус – устойчивая смесь коричневых или темно-коричневых коллоидных материалов. Своеобразие свойств делают гумус важнейшим компонентом почвы, определяющим ее плодородие. Он служит источником азота, фосфора, серы и микроудобрений для растений. Гумус повышает катионообменную емкость, воздухопроницаемость, фильтруемость, влагоемкость почвы [Ковда В.А., 1985].

Эколого-химическая характеристика качества почвы определяется важнейшими данными, такими как общее содержание органических соединений (гумуса), азота (аммонийного, нитратного и связанного с органикой), связанной угольной кислоты (карбонаты кальция и магния), питательных веществ для растений – кальция, магния, калия, фосфора, микроэлементов, а также способностью к их биологическому усвоению. При определении качества почвы играют роль и более простые характеристики, например механический и фракционный состав, значение pH, сухой вес, удельный и насыпной вес, влагоемкость [Методические рекомендации..., 1981].

Для некоторых веществ почва является емким акцептором. Так, тяжелые металлы прочно сорбируются и взаимодействуют с почвенным гумусом, образуя труднорастворимые соединения. Кроме того, их опасность заключается в накоплении в экологических пищевых цепочках. Они переходят из почвы и воды в растения, затем в животных, а в конечном итоге попадают с пищей в организм человека.

Наиболее массовый и опасный характер носит загрязнение почв свинцом. Известно, что при выплавке одной тонны свинца в окружающую среду с отходами выбрасывается его до 25 кг. Соединения свинца используются в качестве добавок к бензину, поэтому автотранспорт является серьезным источником свинцового загрязнения. Особенно много свинца в почвах вдоль крупных автострад. Вблизи крупных центров черной и цветной металлургии почвы загрязнены железом, медью, цинком, марганцем, никелем, алюминием и другими металлами. Во многих местах их концентрация в десятки раз превышает ПДК.

Значительное влияние на химический состав почв оказывает современное сельское хозяйство, широко использующее удобрения и различные химические вещества для борьбы с вредителями, сорняками и болезнями растений. В настоящее время количество веществ, вовлекаемых в круговорот в процессе сельскохозяйственной деятельности, примерно такое же, что и в процессе промышленного производства. При этом с каждым годом производство и применение удобрений и ядохимикатов в сельском хозяйстве возрастает. Неумелое и бесконтрольное использование их приводит к нарушению круговорота веществ в биосфере.

Лабораторная работа № 28. Гравиметрический метод определения массовой доли золы в почве

Метод основан на последовательном прокаливании тиглей и последующим взвешиванием тиглей с почвой.

Оборудование и материалы

1. Шкаф сушильный (105 ± 2) °С.
2. Печь муфельная с электрическим обогревом и автоматическим регулированием температуры (525 ± 25) °С.
3. Фарфоровые чашки или тигли.
4. Весы аналитические.
5. Весы технические.
6. Шкаф вытяжной.
7. Измельчитель почвенных и растительных проб.
8. Сито с отверстиями диаметром 5 мм с поддоном и крышкой.
9. Щипцы тигельные.
10. Эксикатор.

Ход анализа

Подготавливают образцы для исследования (высушивают, растирают в ступке и просеивают через почвенные сита с диаметром ячеей 1 мм). Анализируемые пробы помещают в предварительно взвешенные фарфоровые тигли с таким расчетом, чтобы почва занимала более 2/3 объема тигля, взвешивая их с погрешностью не более 0,001 г, помещают в холодный сушильный шкаф и нагревают его до 105 °С.

Далее тигли, высушенные до постоянной массы, ставят в холодную муфельную печь и постепенно доводят температуру до 200 °С. При появлении дыма печь отключают и дверцу приоткрывают. В течение 1 часа доводят температуру муфельной печи до 525 ± 25 °С и прокаливают в течение 3 часов. После прокаливания тигли вынимают и опускают в эксикаторы для остывания. После взвешивают и повторяют прокаливание (1 час). Повторным взвешиванием определяют постоянный вес тигля с почвой.

Расчет

Массовую долю зольности почв (%) вычисляют по формуле (2.52)

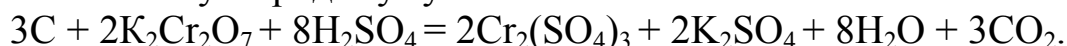
$$X_i = \frac{m - m_1}{m_2} \cdot 100, \quad (2.52)$$

где m – масса тигля с зольным остатком, г; m_1 – масса пустого тигля, г; m_2 – масса сухой почвы, г.

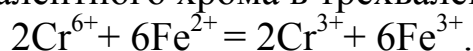
Лабораторная работа № 29. Определение содержания углерода органических соединений по методу И.В. Тюрина

Метод основан на окислении хромовым ангидридом в присутствии серной кислоты углерода органического вещества (гумуса) до CO_2 и определении количества хромового ангидрида, пошедшего на окисление [Растворов О.Г., 1995; Аринушкина Е.В., 1992.].

В качестве окислителя применяют 0,4 н раствор двуххромовокислого калия ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), приготовленный на концентрированной H_2SO_4 (1:1). Реакция окисления углерода гумуса:



Окисление происходит в сильноокислой среде и сопровождается восстановлением шестивалентного хрома в трехвалентный:



Оборудование и материалы

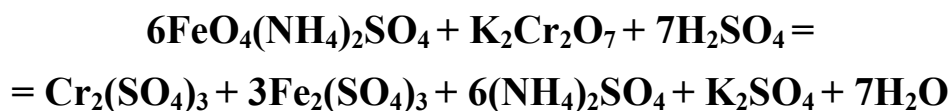
1. Аналитические весы.
2. Колба коническая термостойкая на 100 мл.
3. Воронка стеклянная диаметром 3 см.
4. Бюретка на 25 мл.
5. Пипетка медицинская.
6. Фильтровальная бумага.
7. 0,4 н раствор хромовой смеси: 40 г $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ растворяют в 1 л дистиллированной воды и помещают в термостойкую колбу, затем туда же прибавляют небольшими порциями 1 л концентрированной H_2SO_4 , перемешивают и оставляют для охлаждения.
8. 0,2 н раствор соли Мора: 80 г $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot \text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ растворяют в 1 л дистиллированной воды, туда же добавляют 20 мл концентрированной H_2SO_4 . Хранить в темной склянке.
9. 0,2%-й раствор фенилантраниловой кислоты (ФАК). Берут 0,2 г ФАК и растворяют её в 100 мл 0,2%-го раствора Na_2CO_3 . Предварительно навеску кислоты в фарфоровой чашке смачивают небольшим количеством раствора соды, тщательно перемешивают, а затем добавляют остальное количество раствора соды.

10. Фиксальный раствор 0,1 н KMnO_4 (или растворяют 3,161 г KMnO_4 в 1 л дистиллированной воды).

Ход анализа

Из приготовленной пробы, пропущенной через сито с диаметром отверстий 0,25 мм, берут навеску от 0,1 до 0,5 г (в зависимости от предполагаемого содержания гумуса по таблице 2.13). Навеску помещают в колбу емкостью 100 мл. Затем в колбочки пипеткой приливают по каплям 10 мл 0,4 н раствора $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ в H_2SO_4 (в колбу добавляют 100 мг пемзы для равномерного кипения). В колбочки вставляют маленькие воронки, служащие обратным холодильником, осторожно взбалтывают и ставят на электрическую плиту.

При нагревании начинается выделение мелких пузырьков газа (CO_2), и через 2–3 мин наступает кипение. Кипятят 5 мин. Одновременно проводят холостое кипячение (без почвы), т.е. только 10 мл $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$. После кипячения колбы охлаждают. С помощью промывалки дистиллированной водой смывают капли хромовой смеси в эту же колбочку и, добавив 4–5 капель 0,2%-го раствора фенилантраниловой кислоты, титруют 0,2 н раствором соли Мора. Конец титрования определяют переходом вишнево-фиолетовой окраски в зеленую или грязно-зеленую. Одновременно проводят холостое титрование. По объему соли Мора, пошедшей на титрование, определяют количество хромовой смеси, оставшейся не израсходованной на окисление органического вещества почвы. При титровании солью Мора избытка $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ происходит реакция:



Содержание углерода вычисляют по формуле (2.51)

$$C = \frac{(V_{\text{хол}} - V_{\text{сред. раб.}}) \cdot N \cdot 0,003 \cdot 100}{a} (\%), \quad (2.53)$$

где $V_{\text{хол}}$ – объем соли Мора (мл), пошедшей на титрование 10 мл $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$; $V_{\text{сред. раб.}}$ – объем соли Мора (мл), пошедшей на титрование остатка $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ после сжигания почвы (по среднему результату двух проб); N – нормальность соли Мора; 0,003 – масса в граммах 1 мг-эквивалента углерода; a – навеска почвы, г.

Пересчет углерода на гумус почвы производят, умножая процентное содержание C (углерода) на коэффициент 1,724. Этот коэффициент предложен в 1864 г. Э. Вольфом на основании данных, установивших содержание углерода в гуминовой кислоте ($\text{ГК} = 58\%$). Такое же содержание углерода было принято и для гумуса в целом, поэтому коэффициент приобрел широкое международное значение по формуле (2.54).

$$\text{Гумус (\%)} = \text{C(\%)} \cdot 1,724 . \quad (2.54)$$

Приблизительное содержание гумуса в почве можно оценить по ее окраске.

Индикация плодородия почвы по цвету и продуктивности растений

Одним из главных признаков плодородия почвы является наличие в ней гумусовых веществ, которые обуславливают чёрную, тёмно-серую и серую окраски. Помимо вышеуказанных цветов соединения окислов железа придают почве красноватый и бурый цвет, от присутствия закисей железа формируются голубовато-зеленоватые тона; кремнезём, углекислый кальций, каолиниты обуславливают белую и белесую окраску. Эти же тона придают почве наличие гипса и некоторых легкорастворимых солей. Почву по содержанию гумуса и цвету можно условно разделить на следующие категории по плодородию (табл. 2.13).

Таблица 2.13

Категории почвы по окраске, содержанию гумуса и плодородию

Окраска почв	Содержание гумуса, %	Категории
Очень чёрная	10–15	Высокогумусная, очень плодородная (m = 0,05 г)
Чёрная	7–10	Гумусная, плодородная (m=0,1 г)
Тёмно-серая	4–7	Среднегумусная, среднеплодородная (m = 0,2 г)
Серая	2–4	Малогумусная, среднеплодородная (m=0,3 г)
Светло-серая	1–2	Малогумусная, малоплодородная (m=0,4 г)
Белесая	0,5–1	Очень малогумусная, очень малоплодородная (m=0,5–1 г)

Лабораторная работа № 30. Ацидиметрическое определение карбонатов в почве

Определение почвенных карбонатов

Одним из показателей валового состава почвы является содержание в ней CO_2 – карбонатов. Наличие или отсутствие свободных карбонатов является важным диагностическим признаком почв и их отдельных генетических горизонтов.

Присутствие в почве заметных количеств карбонатов препятствует развитию кислотности, а иногда приводит к возникновению щелочности, что оказывает важное влияние на подвижность многих веществ в почве и на агроэкологические особенности почв.

Этот показатель нужен также для различных пересчетов, необходимых при интерпретации данных о содержании других компонентов валового химического состава почв. Из карбонатов почти во всех видах почв преобладают карбонаты щелочноземельных элементов RCO_3 (CaCO_3 – кальцит, $\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$ – доломит, MgCO_3 – магнезит, FeCO_3 – сидерит, $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ – сода) и гидрокарбонаты – $\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$. В жидкой фазе почв содержатся ионы Ca^{2+} , Mg^{2+} , HCO_3^- , CO_3^{2-} , H^+ , OH^- . Эта система имеет важное значение для почв при их естественной влажности, определяя кислотно-щелочное равновесие и подвижность многих компонентов почвы [Растворов О.Г., 1995; Аринушкина Е.В., 1992].

Количественное определение карбонатов проводят в тех почвах, где они обнаружены качественно (проба с HCl) хотя бы в некоторых горизонтах. Основанием для определения карбонатов является также значение $\text{pH}_{\text{HO}} > 7$. О примерном содержании карбонатов и соответственно размерах навески для анализа можно судить по характеру вскипания почвы (пробы) от 2–3 капель 10%-го раствора HCl (табл. 2.14).

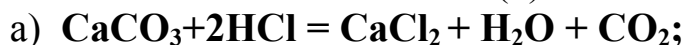
Таблица 2.14

Определение величины навески почвы для определения CO_2^- карбонатов

Вскипание	Содержание CaCO_3 , %	Величина навески, г
1.Очень сильное (бурное)	>10	0,5–1,0
2.Сильное, продолжительное	5–10	1,0–1,5
3.Заметное, но кратковременное	4–3	1,5–2,0
4.Слабое и кратковременное	3–2	2,0–3,0
5.Очень слабое и малозаметное	2–1	3,0–5,0
6.Вскипание отсутствует	< 1	> 5,0

Ацидиметрическое определение карбонатов в почве

Метод основан на разрушении карбонатов титрованным раствором соляной кислоты при суточном настаивании (а) и последующем титровании избытка кислоты щелочью (б):



Метод отличается простотой и пригоден для массовых анализов. Этот метод пригоден для почв с высоким содержанием карбонатов (> 5 %).

Оборудование и материалы

1. 0,02 н раствор HCl : 1,64 мл HCl (пл. 1,19) растворить в воде в мерной колбе емкостью 1 л, довести водой до метки и перемешать.

2. 0,02 н раствор NaOH : 0,8 г NaOH растворяют в воде без CO_2 , доводят в мерной колбе емкостью 1 л такой же водой до метки и пере-

мешивают. Оба титрованных раствора (HCl и NaOH) удобно готовить для этих целей из фиксанала.

3. Лакмусовая бумага.

4. Раствор метилрота (метилового красного): 0,02 г тонко растертого индикатора растворить в 100 мл горячей воды и после охлаждения отфильтровать.

Ход анализа

Навеску почвы, равную 0,5 – 5 г (в зависимости от содержания карбонатов в соответствии с табл. 2.14), помещают в склянку или плоскодонную колбу емкостью 750–1500 мл, приливают 500–1000 мл 0,02 н HCl и оставляют стоять в течение суток при периодическом взбалтывании. В процессе реакции склянки или колбы закрывать пробками не следует.

Через сутки после настаивания проверяют реакцию вытяжек лакмусовой бумагой: если реакция кислая, вытяжку отфильтровывают через складчатый фильтр. Если лакмусовая бумага кислой реакции не показывает, к раствору добавляют ещё 100–200 мл 0,02 н HCl и при периодическом взбалтывании снова оставляют стоять на сутки.

Из отфильтрованной вытяжки берут 25 мл раствора, прибавляют 2–3 капли раствора метилового красного и титруют 0,02 н NaOH до перехода красной окраски в бледно-жёлтую. Титрование можно вести сначала до избытка щёлочи, а затем провести обратное титрование соляной кислотой до перехода жёлтой окраски в красную.

Содержание CO_2^- карбонатов вычисляют по формуле (2.55)

$$\text{CO}_2 = \frac{(a \cdot N_1 - b_{\text{ср}} \cdot N_2) \cdot V \cdot 0,022 \cdot 100}{g \cdot a} \cdot K (\%), \quad (2.55)$$

где a – объем аликвотной части раствора, взятой на титрование, мл; N_1 – нормальность раствора HCl; $b_{\text{ср}}$ – количество мл щёлочи, пошедшей на титрование аликвотной части (среднее значение по результатам двух проб); N_2 – нормальность раствора щёлочи; V – объем всего раствора кислоты, мл; 0,022 – величина мг-экв CO_2 ; g – воздушно-сухая навеска, г; K – коэффициент пересчета воздушно-сухой почвы на высушенную при 105 °С (вычисляют исходя из процентного содержания гигроскопической влаги в исследуемом образце).

Так как в 100 г CaCO_3 содержится 44 г CO_2 (коэффициент пересчета составляет 2,274), то можно сделать пересчет на содержание карбонатов в исследуемой почвенной пробе по следующей формуле (2.56):

$$\text{CaCO}_3 (\%) = \text{CO}_2 (\%) \cdot 2,274. \quad (2.56)$$

Лабораторная работа № 31. Определение углекислоты карбонатов (по объему CO₂) газовойолунометрическим методом

Карбонатные (вскипающие от кислоты) почвы содержат в большом количестве углекислые кальций и магний (CaCO₃, MgCO₃), причем преобладают соли кальция. Гораздо меньшую долю составляет доломит – углекислый магний. Ввиду того что между кальцием, с одной стороны, и анионом угольной кислоты – с другой, в карбонате существует определенное соотношение, можно установить количество углекислого газа в почве и вычислить содержание в ней CaCO₃. Для этого навеску почвы помещают в замкнутое пространство и разлагают соляной кислотой:



Объем выделившегося углекислого газа учитывается. Зная, что 1 мл CO₂ при 0 °С и 760 мм атмосферного давления весит 1,9769 мг, легко вычислить вес всего выделившегося в процессе реакции углекислого газа, внося поправки на температуру и давление, отсчитанные во время анализа. Из химической формулы известно, что в 100 мл CaCO₃ содержится 44 г CO₂. Отсюда, если через «х» обозначить вес (в граммах) отсчитанного объема CO₂, то соответствующее ему количество CaCO₃ в воздушно-сухой навеске почвы (н) составит (2.57):

$$\text{CaCO}_3 = \frac{x \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{n \cdot 44 \cdot (100 - W)} (\%). \quad (2.57)$$

Чтобы результат анализа отнести в процентах к сухому веществу почвы, полученное число умножают на $\frac{100}{100-W}$, где W – процент влаги, определяемой параллельно.

Приведение CO₂ к нормальным условиям

При нормальных условиях (760 мм давления и 0 °С) 1 мл CO₂ весит 1,9769 мг. Приведя объем CO₂, измеренного в результате анализа, к нормальным условиям, мы легко вычислим его вес (X) по формуле (2.58)

$$X(\text{г}) = \frac{(P - P_1) \cdot 273 \cdot V \cdot 1,9769}{760 \cdot (273 + T)} \cdot 10^{-3}, \quad (2.58)$$

где T – температура воздуха в лаборатории во время анализа, °С; P – давление атмосферы по барометру в лаборатории в это время, мм рт.ст.; P₁ – упругость водяных паров при данной температуре, мм рт.ст.; V – объем CO₂ в мл, отсчитанный в кальциметре; x – вес найденного объема CO₂ в г; 760 - нормальное давление атмосферы в мм рт.ст.; 273 – абсолютная температура, отвечающая 0 °С; 1,9769 мг–вес 1 мл CO₂ при 0 °С и давлении 760 мм рт. ст.

Углекислый газ, собирающийся над водой, будет насыщен водяными парами, поэтому отсчитанный объем CO_2 находился не под давлением, показанным барометром в лаборатории, а несколько меньшим. Это уменьшение равно упругости водяных паров при температуре во время анализа. Следовательно, из показания барометра (P) необходимо вычесть величину упругости водяных паров (P_1) при данной температуре. Величину P_1 находят из приложения 2.

Лабораторная работа № 32. Определение карбонатов гравиметрическим методом

Метод основан на измерении уменьшения массы образца карбонатной почвы при взаимодействии с кислотой по реакции:



Этот метод пригоден для почв с низким содержанием карбонатов ($< 5\%$).

Оборудование и материалы

1. Аналитические весы.
2. Стаканчик на 25 мл.
3. Часовое стекло.
4. Калька.
5. 5 н раствор HCl : 410 мл HCl (плотность 1,19 г/мл) под тягой выливают в мерный сосуд емкостью 1 л, в который предварительно налито около 300 мл дистиллированной воды, перемешивают, охлаждают и доливают водой до метки. Допустимо вместо 5 н раствора HCl использовать раствор 1:1.

Ход анализа

На узкой полоске кальки отвешивают на аналитических весах 1–3 г почвы. В маленький стаканчик (25 мл) наливают 7 мл 5 н раствора HCl , закрывают часовым стеклом и снова взвешивают. Согнув кальку лодочкой и слегка приподняв стекло, осторожно и постепенно высыпая навеску почвы в образовавшуюся щель, стараясь избежать разбрызгивания. Содержимое стаканчика перемешивают круговыми движениями и оставляют на 30 мин, а затем снова взвешивают.

По завершении анализа содержимое стаканчика в раковину не выливать!

Содержание CO_2 и CaCO_3 рассчитывают по формулам (2.59) и (2.60):

$$\text{CO}_2 = \frac{(m_1 + a) - m_2}{a} \cdot 100(\%), \quad (2.59)$$

$$\text{CaCO}_3(\%) = \text{CO}_2(\%) \cdot 2,274 . \quad (2.60)$$

где m_1 – масса стаканчика со стеклом и кислотой, г; a – навеска почвы, г; m_2 – масса стаканчика со стеклом, кислотой и почвой после удаления CO_2 , г.

Лабораторная работа № 33. Фотометрический метод определения общего азота

Метод основан на минерализации сухого почвенного образца при нагревании с концентрированной серной кислотой в присутствии перекиси водорода с последующим определением оптической плотности окрашенного индофенольного соединения, образующегося в щелочной среде при взаимодействии аммиака с гипохлоритом натрия [ГОСТ 26715-85, 1986; Каверина Н.В., 2006].

Оборудование и материалы

1. Весы лабораторные 2-го класса точности.
2. Фотоколориметр с максимумом поглощения при $L = 710 \text{ нм}$.
3. Электроплитка.
4. Колбы Кьельдаля, вместимостью 250 см^3 .
5. Ступка фарфоровая.
6. Посуда мерная (колба, пипетка).
7. Стаканы химические.
8. Колбы конические.
9. Воронки стеклянные.
10. Цилиндры мерные.
11. Фильтры беззольные «синяя лента».
12. Реактив Несслера.
13. Серная кислота, хч, пл. $1,84 \text{ г/см}^3$.
14. Медь сернокислая, хч.
15. Соляная кислота, раствор молярной концентрации 1 моль/дм^3 .
16. Натрия тиосульфат, раствор молярной концентрации 2 моль/дм^3 .
17. Натрий салициловокислый.
18. Калий-натрий виннокислый (сегнетова соль).
19. Натрий нитропруссидный.
20. Натрий углекислый.
21. Известь хлорная.
22. Калий йодистый.
23. Аммоний хлористый.
24. Перекись водорода, хч, 30%-й раствор.

25. Запасной окрашивающий раствор: 56,7 натрия салициловокислого, 16,7 сегнетовой соли и 27,0 натрия гидроокиси помещают в мерную колбу вместимостью 1 дм³ и приливают 700 см³ дистиллированной воды. Раствор кипятят около 20 минут для удаления следов аммиака. После охлаждения в раствор добавляют 0,4 г нитропруссиды натрия и доводят объем раствора до метки дистиллированной водой. Раствор хранят 1 месяц.

26. Рабочий окрашивающий раствор: в плоскодонную колбу вместимостью 4000 см³ помещают 250 см³ запасного окрашивающего раствора, приливают 2000 см³ дистиллированной воды и 100 см³ раствора окиси натрия молярной концентрацией 2 моль/дм³, а затем 4,7 г трилона Б. Раствор не хранится.

27. Запасной раствор гипохлорита натрия: 150 г хлорной извести перемешивают с 250 см³ дистиллированной воды. В другом стакане вместимостью 500 см³ растворяют 100 г углекислого натрия в 250 см³ дистиллированной воды. Оба раствора сливают в колбу или стакан на 1 дм³ при постоянном помешивании раствора. Полученную суспензию оставляют на 2 дня для отстаивания. Надосадочную жидкость сливают для определения массовой доли хлора. Для этого 1 см³ фильтра переносят в коническую колбу на 100 см³, добавляют 50 см³ дистиллированной воды, 2 г йодистого калия и 10 см³ раствора соляной кислоты молярной концентрации 1 моль/дм³. Образовавшийся йод оттитровывают раствором тиосульфата натрия молярной концентрацией 0,1 моль/дм³ до исчезновения вишневой окраски раствора: 1 см³ раствора тиосульфата натрия молярной концентрацией 0,1 моль/дм³ соответствует 3,55 мг хлора. Реактив хранят в склянке из темного стекла в холодильнике.

28. Рабочий раствор гипохлорита натрия готовят из запасного раствора гипохлорита натрия, разбавляя дистиллированной водой без аммиака до массовой концентрации свободного хлора 0,12 г в 100 см³. Раствор используется в день анализа.

29. Исходный стандартный раствор хлористого аммония, содержащий 0,5 мг/см³ NH₄Cl. Растворяют в дистиллированной воде 1,91 г хлористого аммония, высушенного до постоянной массы, в мерной колбе вместимостью 1 дм³ и доводят до метки дистиллированной водой.

30. Рабочие стандартные растворы готовят в мерных колбах вместимостью 100 см³ соответствующим разбавлением исходного раствора, содержащего 0,5 мг/см³ NH₄Cl. В мерные колбы вместимостью 100 см³ помещают 0; 2; 4; 8; 12; 16; 20; 24; 28; 32 мл образцового раствора хлористого аммония. Затем в каждую колбу добавляют по 50 см³ дистиллированной воды, по 8 см³ концентрированной серной кислоты и перемешивают. После охлаждения объемы растворов доводят дистиллирован-

ной водой до метки и снова перемешивают. Растворы хранятся в холодильнике 3 месяца.

Градуировочный график

В стаканы вместимостью 100 мл вносят по 0,5 см³ рабочих стандартных растворов, что соответствует содержанию в стандарте 0; 0,25; 0,5, 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 массовой доли азота %. Затем к каждому стандарту прибавляют по 50 см³ рабочего окрашивающего раствора. Растворы перемешивают, прибавляют по 2,5 см³ рабочего раствора гипохлорита натрия и снова перемешивают. Растворы оставляют на 1 час при комнатной температуре для полного развития окраски. Оптическую плотность растворов измеряют относительно контрольной пробы (раствор содержащий 0 мл исходного раствора) на фотоколориметре при длине волны 655 нм, используя кювету толщиной поглощающего света слоя 10 мм.

Ход анализа

Навеску почвы 1 г помещают в колбу Кьельдаля, добавляют 20 см³ концентрированной серной кислоты и 3 см³ раствора перекиси водорода и оставляют на 12–15 часов. Затем в колбу добавляют еще 3–5 см³ перекиси водорода и помещают в вытяжной шкаф на электроплитку под углом 35° к вертикали. В отверстие колбы помещают воронку и осторожно нагревают до тех пор, пока содержимое колбы не перестанет пениться. Кипячение продолжают до полного обесцвечивания раствора. Затем колбу снимают с электроплитки и охлаждают.

После охлаждения минерализат количественно переносят в мерную колбу вместимостью 250 см³, предварительно налив в нее 25–30 см³ воды. После охлаждения объем раствора доводят до метки дистиллированной водой.

В химический стакан на 100 см³ помещают по 0,5 см³ анализируемого раствора, добавляют 50 см³ рабочего окрашивающего раствора. Растворы перемешивают, прибавляют по 2,5 см³ рабочего раствора гипохлорита натрия и снова перемешивают. Растворы оставляют на 1 час при комнатной температуре для полного развития окраски. Оптическую плотность растворов измеряют на фотоколориметре при длине волны 655 нм, используя кювету толщиной поглощающего света слоя 10 мм.

Расчет

Концентрацию общего азота в почве с (мг/кг) вычисляют по формуле (2.61)

$$C = \frac{a \cdot V_1}{V \cdot b}, \quad (2.61)$$

где a – количество общего азота, найденного в пробе по градуировочному графику, %; V_1 – общий объем раствора пробы, мл; $V_1 = 250$ см³; V – объем раствора пробы используемой для анализа, мл; $V = 0,5$ см³; b – масса исследуемой пробы, г; $b = 1$ г.

Лабораторная работа № 34. Определение минеральных соединений азота в почвенных вытяжках колориметрическим методом

1. Приготовление почвенных вытяжек

Возможен анализ почв в твердом состоянии с применением сложных инструментальных методов (эмиссионный спектральный анализ, рентгенофлуоресцентный метод и др.) [Воробьева Л.А., 1998]. Однако для этого необходимо специальное дорогостоящее оборудование. Поэтому чаще используют методы, позволяющие анализировать растворы, т.е. почвенные вытяжки (водную, солевую или кислотную).

Водная вытяжка используется для определения содержания в почве растворимых солей – хлоридов, сульфатов, карбонатов, гидрокарбонатов, солей кальция и магния – главным образом при оценке засоленности почвы.

Солевая вытяжка используется для определения величины рН, являющейся показателем обменной кислотности почвы.

Кислотная вытяжка используется для определения содержания в почве нерастворимых в воде и солевом растворе компонентов – главным образом тяжелых металлов, которые могут находиться в почве в разных формах и переходят в растворимые формы только в сильноокислой среде.

Количество приготавливаемой почвенной вытяжки зависит от вида и количества выполняемых анализов [Муравьев А.Г., 2015].

Приготовление водной почвенной вытяжки

1. В стакан на 250 мл поместить 30 г высушенной и охлажденной до комнатной температуры почвы.
2. Добавить к почве дистиллированную воду в количестве 150 мл (из расчета 5 мл воды на 1 г почвы).
3. Перемешать содержимое стакана в течение 3–5 минут с помощью палочки.
4. Отфильтровать содержимое стакана через бумажный фильтр, собирая готовую вытяжку в приемной колбе. Первые несколько миллилитров фильтрата необходимо отбросить, т.к. в нем собраны соли и загрязнения с фильтра.

Приготовление солевой и кислотной почвенных вытяжек

Приготовление солевой и кислотной почвенных вытяжек выполняют аналогично приготовлению водной вытяжки с некоторой разницей. В случае **солевой вытяжки** к почве добавляют раствор хлорида калия с концентрацией 1 г-экв /л из расчета 2,5 мл раствора соли на 1 г почвы. В случае **кислотной вытяжки** к почве добавляют раствор азотной кислоты в концентрации 1,5 г-экв/л из расчета 2,5 мл раствора кислоты на 1 г почвы. **Кислотную вытяжку готовят под тягой!**

Выполнение работы возможно с применением тест-комплектов, готовых компонентов и принадлежностей производства ЗАО «Крисмас+». Подробная информация представлена в приложении.

Оборудование и материалы

1. Стакан на 250 мл.
2. Цилиндр мерный на 100 мл.
3. Палочка стеклянная.
4. Воронка стеклянная с диаметром 10 см.
5. Фильтр бумажный.
6. Колба коническая на 250 мл.
7. Дистиллированная вода.
8. 1 н раствор KCl.
9. 1,5 н раствор HNO_3 .
10. Образец почвы.

2. Определение минеральных соединений азота

Азот является основным элементом питания растений. Основная часть азота почвы связана с гумусом. Азот составляет 5 % от содержания гумуса в почве.

Минеральные соединения азота в почве представлены солями азотной и азотистой кислоты (нитратами – NO_3^- и нитритами – NO_2^-) и катионами аммония – NH_4^+ . Из почвы растения усваивают два главных азотных соединения: селитру (NO_3^-) и аммиачные соли (NH_4^+).

– NO_3^- -ионы находятся в почве только в растворенном состоянии, поэтому для их обнаружения нужна водная вытяжка.

– NH_4^+ -ионы энергично поглощаются почвой, поэтому меньшая часть катионов аммония находится в растворенном состоянии, а большая часть – в поглощенном состоянии. Чтобы извлечь NH_4^+ , нужно почву обработать солевым раствором, т.е. приготовить солевую вытяжку [Воробьева Л.А., 1998; Прожорина Т.И., 2009., ч. 2].

Фактическую концентрацию NO_3^- сравнивают с ПДК, а фактическую концентрацию NH_4^+ сравнивают с фоном.

Задание

1. Приготовить водную почвенную вытяжку и определить фактическую концентрацию нитрат-иона. Сравнить с ПДК.
2. Приготовить солевую вытяжку и определить фактическую концентрацию аммонийного азота.

2.1. Методика измерения массовой концентрации нитрат-анионов

Метод определения основан на предварительном восстановлении нитрат-анионов цинковым порошком до нитрит-анионов с последующим образованием азокрасителя в кислой среде в присутствии сульфаниловой кислоты и а-нафтиламина. Диапазон измерений: 0,08 – 2,0 мг/л.

Измерения по данной методике выполняются при использовании портативного фотоколориметра типа «Экотест-2020».

Оборудование и материалы

1. Фотоколориметр типа «Экотест-2020» со светодиодом с рабочей длиной волны 525 нм (рис. 2.8).

2. Раствор уксусной кислоты (2 моль/дм³ экв.). 114 мл ледяной уксусной кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят до метки дистиллированной водой, перемешивают. Раствор хранят в темном стеклянном сосуде с притертой пробкой. Срок хранения раствора 1 год.

3. Раствор сульфаниловой кислоты. 3,0 г сульфаниловой кислоты помещают в коническую колбу вместимостью 1000 мл, прибавляют 900 мл раствора уксусной кислоты (2 моль/дм³ экв), отмеренной мерным цилиндром, перемешивают до полного растворения реактива. Приготовленный раствор должен быть бесцветным и прозрачным. Раствор хранят в темном стеклянном сосуде с притертой пробкой. Срок хранения раствора 1 год.

4. Раствор α -нафтиламина. Для приготовления раствора используют отдельную посуду. Раствор готовится под тягой. В термостойкий стакан вместимостью 250 мл помещают 120 мл дистиллированной воды. Стакан с водой помещают на электрическую плитку с закрытой спиралью, нагревают до кипения. В кипящую воду помещают навеску 1,5 г α -нафтиламина, на дне стакана образуется красно-фиолетовая капля. Раствор перемешивают стеклянной палочкой и кипятят 5 минут. Затем горячий раствор α -нафтиламина фильтруют через промытый горячей дистиллированной водой фильтр «белая лента» в колбу, куда предварительно помещают 900 мл раствора уксусной кислоты (2 моль/дм³ экв.). Раствор перемешивают. Приготовленный раствор должен быть бесцветным и прозрачным. Раствор хранят в темном стеклянном сосуде с притертой пробкой. Срок хранения раствора 1 год.

5. Порошок восстановитель. Хлорид калия 30 г и порошок цинка 0,3 г растирают в фарфоровой ступке до однородной порошкообразной массы.

6. Реактив на нитрат-ионы. Отмерьте с помощью градуированных пробирок равные объемы растворов № 3 (сульфаниловой кислоты) и № 4 (раствор α -нафтиламина) и смешайте во флаконе для приготовления реактива на нитрат-анион. Реактив готовьте в количествах, необходимых для проведения анализа, и используйте в день приготовления.

7. Нитрат калия (или набор Государственных стандартных образцов состава водных растворов нитрат-ионов ГСО, ампула (1,0 г/дм³).

Подготовка к анализу

1. Приготовление стандартных растворов нитрат-анионов

1.1. Приготовление основного стандартного раствора нитрат-анионов с концентрацией 1 г/л

Готовится 1) из нитрата калия квалификации не ниже хч, высушенного до постоянной массы в сушильном шкафу при температуре 100–105 °С; 2) набора Государственных стандартных образцов состава водных растворов нитрат-ионов ГСО, ампула (1,0 г/дм³) – используется без разбавления.

Навеску нитрата калия ($0,160 \pm 0,004$ г), взвешенную на аналитических весах, поместите в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворите в 20–30 мл дистиллированной воды и доводите объем раствора дистиллированной водой до метки. Раствор храните в склянке с притертой пробкой. Раствор устойчив в течение 6 месяцев при условии хранения в холодильнике.

1.2. Приготовление рабочего стандартного раствора нитрат-анионов с концентрацией 50 мг/л

5 мл основного стандартного раствора с концентрацией 1 г/л поместите в мерную колбу вместимостью 100 мл и доведите до метки дистиллированной водой. Раствор устойчив в течение 1 суток.

1.3. Приготовление рабочего стандартного раствора нитрат-анионов с концентрацией 10 мг/л

20 мл рабочего стандартного раствора с концентрацией 50 мг/л поместите в мерную колбу вместимостью 100 мл и доведите до метки дистиллированной водой. Раствор устойчив в течение 1 суток.

Построение градуировочного графика с применением фотокolorиметра «Экотест-2020»

Приготовьте градуировочные растворы в склянках по алгоритму, приведенному в табл. 2.15.

В пробирки, градуированные на 15 мл, градуированными пипетками отберите стандартный раствор нитрат-анионов и добавьте дистиллированную воду в соответствии с табл. 2.15.

В каждую пробирку добавьте 2,0 мл свежеприготовленного реактива на нитрат-ионы, перемешайте, добавьте 0,2 г порошка восстановителя (0,2 г порошка заполняют шпатель на 1/2 глубины, не образуя «горки»), пробирку закройте пробкой, встряхните для перемешивания раствора. Оставьте пробирки на 5 минут для полного протекания реакции, периодически встряхивая содержимое пробирки.

Таблица 2.15

Приготовление градуировочных растворов для определения нитрат-анионов

Наименование раствора и порядок его использования	Количество раствора, мл					
	Номер градуировочного раствора (пробы)					
	Раствор сравнения (Фон)	1	2	3	4	5
Стандартный раствор нитрат-анионов, с концентрацией: 50,0 и 10 мг/л	–	0,48	1,2	3,0	6,0	0,24
Вода дистиллированная	6,0	5,52	4,8	3,0	–	5,76
Вода дистиллированная	до метки «11» мл в каждую пробу					
Реактив на нитрат-анионы	по 2,0 мл в каждую пробу					
Порошок восстановителя	по 0,2 г в каждую пробу					
Пробу выдерживают 5 мин						
Пробу переливают в склянку для колориметрирования до метки «10» не допуская попадания осадка						
Содержание нитрат-анионов в пробе объемом 6 мл, мг	0	0,0048	0,0012	0,003	0,006	0,012
Концентрация нитрат-анионов в пробе, мг/л	0	0,08	0,2	0,5	1,0	2,0

Перелейте раствор из пробирок в склянку для колориметрирования. Установите рабочую длину волны 525 нм. Кювету установите в прибор, закройте крышкой и измерьте оптическую плотность раствора № 1. Аналогично замерьте оптические плотности всех градуировочных растворов этой серии относительно *холостой пробы*, которую готовят на дистиллированной воде (без внесения стандартного раствора) и последовательно добавляя 2,0 мл свежеприготовленного реактива на нитрат-ионы и 0,2 г порошка восстановителя.

По полученным данным постройте график зависимости измеренных значений оптической плотности от концентрации градуировочных растворов. По оси ординат откладывайте значения оптической плотности, а по оси абсцисс – величину концентрации вещества в мг/л.

Градуировочный график постройте с помощью программного обеспечения к фотоколориметру «Экотест-2020». Полученный градуировочный график сохраните в памяти ПК.

Проведение анализа

Включите фотоколориметр «Экотест-2020». Установите рабочую длину волны 525 нм. Оптическую плотность исследуемой пробы проводят аналогично методике для построения калибровочного графика. Го-

товят две параллельные пробы за результат берут среднеарифметическое значение. Определить массовые концентрации нитрат-аниона в анализируемых пробах по ранее построенному градуировочному графику, хранящемуся в памяти ПК.

Пересчет нитрат-ионов из «мг/л» в «мг/кг почвы» проводят по формуле (2.62)

$$C(\text{NO}_3^-) = \frac{C_x (\text{NO}_3^-) \cdot V_1}{V \cdot b} \text{ (мг/кг почвы) }, \quad (2.62)$$

где C_x – количество нитрат-ионов, определенных на фотоколориметре по калибровочному графику (мг/кг); V_1 – общий объем раствора почвенной вытяжки; V – объем водной вытяжки, взятой для анализа (6 мл); b – масса почвы (30 г).

ПДК (NO_3) = 130 мг/кг почвы. Сделать вывод.

2. Методика измерения массовой концентрации катионов аммония

Метод определения основан на способности катиона аммония реагировать в присутствии с реактивом Несслера с образованием окрашенного в желтый цвет в щелочной среде соединения. Диапазон измерений: 0,1 – 6,0 мг/л.

Измерения по данной методике выполняются при использовании портативного фотоколориметра типа «Экотест-2020».

Оборудование и реактивы

1. Фотоколориметр типа «Экотест-2020» со светодиодом с рабочей длиной волны 400 нм.
2. Реактив Несслера.
3. Сегнетова соль.
4. Аммония хлорид по ГОСТ 3773, хч (или ампула из набора Государственных стандартных образцов состава водного раствора ионов аммония).

Подготовка к анализу

1. Приготовление стандартных растворов катионов аммония

1.1. *Приготовление основного стандартного раствора катионов аммония с концентрацией 1 г/л.* Взвешенную на аналитических весах навеску $2,9650 \pm 0,0010$ г хлорида аммония, предварительно высушенного до постоянной массы при 100–105 °С, поместите в мерную колбу вместимостью 1000 мл, растворите в 200–300 мл дистиллированной воды и доведите объем раствора дистиллированной водой до метки. Раствор храните в колбе с пришлифованной пробкой. Основной раствор устойчив в течение 3 месяцев.

1.2. *Приготовление рабочего стандартного раствора катионов аммония с концентрацией 10 мг/л.* 1 мл основного стандартного раство-

ра с концентрацией 1 г/л поместите в мерную колбу вместимостью 100 мл и доведите до метки дистиллированной водой. Раствор устойчив в течение 1 суток.

1.3. *Приготовление рабочего стандартного раствора катионов аммония с концентрацией 1 мг/л.* 10 мл рабочего стандартного раствора с концентрацией 10 мг/л поместите в мерную колбу вместимостью 100 мл и доведите до метки дистиллированной водой. Раствор устойчив в течение 1 суток.

Построение градуировочного графика с применением фотоколориметра «Экотест-2020»

Приготовьте градуировочные растворы в склянках по алгоритму, приведенному в табл. 2.16.

В мерные склянки градуированными пипетками отберите стандартный раствор хлорида аммония и добавьте дистиллированную воду в соответствии с таблицей. В каждую склянку добавьте 0,1 г (на кончике шпателя) сегнетовой соли, перемешайте, добавьте 1,0 мл реактива Несслера, склянку закройте пробкой, встряхните для перемешивания раствора. Выдержите растворы в склянках 2 мин для полного развития окраски.

Таблица 2.16

Приготовление градуировочных растворов для определения катиона аммония

Наименование раствора и порядок его использования	Количество раствора, мл							
	Номер градуировочного раствора (пробы)							
	раствор сравнения (Фон)	1	2	3	4	5	6	7
Стандартный раствор хлорида аммония с концентрацией 1,0 и 10 мг/л	–	0,5	1,0	2,5	5,0	1,0	2,0	3,0
Вода дистиллированная	5,0	4,5	4,0	2,5	–	4,0	3,0	2,0
Сегнетовая соль	по 0,1 г (на кончике шпателя) в каждую пробу							
Реактив Несслера	По 1,0 мл в каждую пробу							
Содержание аммония в пробе объемом 5 мл, мг	0	0,0005	0,001	0,0025	0,005	0,01	0,02	0,03
Концентрация аммония в пробе, мг/л	0	0,1	0,2	0,5	1,0	2,0	4,0	6,0

Установите рабочую длину волны 400 нм. Кювету установите в прибор, закройте крышкой и измерьте оптическую плотность раствора № 1. Аналогично замерьте оптические плотности всех градуировочных растворов этой серии относительно *холостой пробы*, которую готовят на дистиллированной воде (без внесения стандартного раствора) и последовательно добавляя 0,1 г (на кончике шпателя) сегнетовой соли и 1,0 мл реактива Несслера.

По полученным данным постройте график зависимости измеренных значений оптической плотности от концентрации градуировочных растворов. По оси ординат откладываете значения оптической плотности, а по оси абсцисс – величину концентрации вещества в мг/л.

Градуировочный график постройте с помощью программного обеспечения к фотоколориметру «Экотест-2020». Полученный градуировочный график сохраните в памяти ПК.

Проведение анализа

Включите фотоколориметр «Экотест-2020». Установите рабочую длину волны 400 нм. Оптическую плотность исследуемой пробы проводят аналогично методике для построения калибровочного графика. Готовят две параллельные пробы, за результат берут среднеарифметическое значение.

Определить массовые концентрации аммонийного азота в анализируемых пробах по ранее построенному градуировочному графику, хранящемуся в памяти ПК. Пересчет аммоний-иона из «мг/л» в «мг/кг почвы» проводят по формуле (2.63)

$$C(\text{NH}_4^+) = \frac{C_x (\text{NH}_4^+) \cdot V_1}{V \cdot b} \text{ (мг/кг) }, \quad (2.63)$$

где C_x – количество NH_4^+ ионов определенных на фотоколориметре по калибровочному графику (мг/кг); V_1 – общий объем раствора почвенной вытяжки; V – объем солевой вытяжки, взятой для анализа (5 мл); b – масса почвы (20 г).

ПДК отсутствует. Сравнить с фоном, сделать вывод.

Лабораторная работа № 35. Фотометрический метод определения общего фосфора

Метод основан на минерализации сухого почвенного образца, при нагревании с концентрированной серной кислотой в присутствии перекиси водорода, с последующим определением оптической плотности окрашенного фосфорно-молибденового комплекса, восстановленного до молибденовой сини [ГОСТ 26715–85, 1986, Каверина Н.В, 2006].

Оборудование и материалы

1. Весы лабораторные 2-го класса точности.
2. Фотоколориметр со светофильтром с максимумом поглощения при $L = 710$ нм.
3. Электроплитка.
4. Колбы Къельдаля, вместимостью 250 см^3 .
5. Ступка фарфоровая.
6. Посуда мерная (колба, пипетка).
7. Стаканы химические.
8. Колбы конические.
9. Воронки стеклянные.
10. Фильтры беззольные «синяя лента».
11. Цилиндры мерные.
12. Серная кислота, хч, пл. $1,84\text{ г/см}^3$.
13. Серная кислота, $2,5\text{ моль/дм}^3$: приливают 70 мл дистиллированной воды в мерную колбу 100 см^3 и приливают 14 см^3 концентрированной серной кислоты. После охлаждения доводят объем до метки дистиллированной водой.
14. Перекись водорода, хч, 30%-й раствор.
15. Аммоний молибденовокислый.
16. Калий сурьмяновиннокислый.
17. Аскорбиновая кислота.
18. Калий фосфат однозамещенный.
19. Медь сернокислая.

Растворы

1. Раствор А: 12 г аммония молибденовокислого помещают в мерную колбу вместимостью 250 см^3 и приливают дистиллированную воду до метки. 0,29 г сурьмяновиннокислого калия помещают в мерную колбу вместимостью 100 см^3 и приливают дистиллированную воду до метки.

После перемешивания и растворения реактивов оба раствора сливают в мерную колбу вместимостью 2000 см^3 и добавляют 1 см^3 раствора серной кислоты молярной концентрацией $2,5\text{ моль/дм}^3$. После охлаждения доводят объем до метки дистиллированной водой и хранят в склянке из темного стекла в холодильнике 3 месяца.

2. Раствор Б: 0,53 г аскорбиновой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 500 см^3 и приливают 100 см^3 реактива А. После растворения аскорбиновой кислоты объем раствора доводят до метки дистиллированной водой. Раствор готовят и используют в день анализа.

3. Исходный стандартный раствор однозамещенного калия, содержащий $1\text{ мг/мл P}_2\text{O}_5$. Растворяют в дистиллированной воде $1,916\text{ г}$ однозамещенного фосфорнокислого калия, высушенного до постоянной массы, в мерной колбе вместимостью 1 дм^3 и доводят объем раствора до

метки дистиллированной водой. Полученный раствор тщательно перемешивают.

4. Рабочие стандартные растворы готовят в мерных колбах вместимостью 500 см³ соответствующим разбавлением исходного стандартного раствора, содержащего 1 мг/мл Р₂О₅. В колбы вносят 50 мл бидистиллированной воды, добавляют по 0; 2; 4; 6; 8; 10; 12; 16; 20; 25 мл исходного стандартного раствора и 15 см³ концентрированной серной кислоты. После охлаждения доводят до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивают. Растворы хранят 3 месяца в холодильнике.

Градуировочный график

В стаканы вместимостью 100 мл вносят по 0,5 см³ рабочих стандартных растворов, что соответствует содержанию в стандарте 0; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,8; 1,0; 1,25 массовой доли Р₂О₅ %. Затем к каждому стандарту прибавляют по 50 мл реактива Б, перемешивают и оставляют растворы на 30 мин при комнатной температуре для полного развития окраски. Оптическую плотность растворов измеряют относительно контрольной пробы (раствор, содержащий 0 мл исходного раствора) на фотоколориметре при длине волны 710 нм, используя кювету толщиной поглощающего света слоя 10 мм.

Ход анализа

Разложение пробы и разведение минерализата проводят аналогично фотометрическому определению общего азота (см. работу № 33).

В химический стакан на 100 см³ помещают по 0,5 см³ анализируемого раствора, добавляют 50 см³ раствора Б. Одновременно приготавливают контрольную пробу. Пробы перемешивают и оставляют растворы на 30 мин при комнатной температуре для полного развития окраски. Оптическую плотность растворов измеряют на фотоколориметре при длине волны 710 нм, используя кювету толщиной поглощающего света слоя 10 мм.

Расчет

Концентрацию общего фосфора в почве с (мг/кг) вычисляют по формуле (2.64)

$$C = \frac{a \cdot V_1}{V \cdot b}, \quad (2.64)$$

где а – количество общего фосфора, найденного в пробе по градуировочному графику, %; V₁ – общий объем раствора пробы, мл; V₁ = 250 см³; V – объем раствора пробы, используемой для анализа, см³; V = 0,5 см³; b – масса исследуемой пробы, г; b = 1 г.

Лабораторная работа № 36. Определение подвижного фосфора в почвах колориметрическим методом (модификация Ф.В. Чирикова)

В основе всех методов определения фосфора лежит его способность в кислой среде образовывать с молибдатом комплекс фосфорно-молибденовую кислоту (гетерополиоксиду) состава: $\text{H}_3[\text{P}(\text{Mo}_3\text{O}_{10})_4]$, жёлтого цвета. При дальнейшем прибавлении к раствору восстановителя (олова) молибден, входящий в состав фосфорно-молибденовой кислоты, частично восстанавливается до пятивалентного с образованием комплексного соединения синего цвета молибденовой сини. Восстановитель же (олово) будет окисляться: $\text{Sn}^{2+} - 2e \rightarrow \text{Sn}^{4+}$. Примерный состав образующегося соединения: $(\text{MoO}_2 \cdot 4 \text{MoO}_3)_2 \cdot \text{HPO}_3 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$.

Метод Чирикова основан на извлечении фосфора из почвы 0,5 н раствором уксусной кислоты при соотношении почва : раствор = 1:25 с последующим определением фосфора в виде молибденовой сини на фотоэлектроколориметре.

Выполнение работы возможно с применением тест-комплектов, готовых компонентов и принадлежностей производства ЗАО «Крисмас+». Подробная информация представлена в приложении.

Оборудование и материалы

1. Весы лабораторные 2-го класса точности.
2. Фотоколориметр с максимумом поглощения при $\lambda = 650\text{--}680$ нм.
3. Раствор уксусной кислоты CH_3COOH 0,5 н: 30 мл концентрированной CH_3COOH разбавляют в небольшом количестве дистиллированной воды и доводят в мерной колбе до 1 л.

4. Молибденовоокислого аммония в серной кислоте (комплексобразователь $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 2,5%-й раствор: 25 г растворяют в 200 мл воды при нагревании. Одновременно в мерную колбу на 1 л приливают 500 мл воды и очень осторожно, по стенкам колбы, без перемешивания, вливают небольшими порциями 280 мл концентрированной H_2SO_4 . После остывания обоих растворов в серную кислоту небольшими порциями, при постоянном помешивании, приливают раствор $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$. После охлаждения общий объем доводят до 1 л.

5. Хлористое олово: в стаканчик отвешивают 1,25 г $\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, добавляют 5–10 мл дистиллированной воды и 12 мл концентрированной HCl , перемешивают и переносят в мерную колбу на 50 мл, остальной объем доводят дистиллированной водой до метки. Колбу погружают в химический стакан с водой и кипятят на электроплитке до полного растворения восстановителя.

6. Эталонный раствор химически чистого однозамещенного фосфорнокислого натра, содержащий в 1 мл 0,1 мг P_2O_5 (в 1 л 0,1 г). Приго-

товление: 0,17 г химически чистого NaH_2PO_4 , растворяют дистиллированной водой, доводят раствор до метки 1 л.

7. Рабочий раствор. Приготовление рабочего эталонного раствора: 1 мл основного эталонного раствора (с содержанием P_2O_5 0,1 мг/мл) разводят водой в мерной колбе на 50 мл. Такой рабочий раствор содержит 0,002 мг P_2O_5 в 1 мл.

Ход анализа

2 г воздушно-сухой почвы помещают в колбу и приливают 50 мл 0,5 н раствора уксусной кислоты. Взбалтывают 1 час и оставляют стоять сутки. Суточное отстаивание можно заменить двухчасовым взбалтыванием. Фильтруют через плотный складчатый фильтр. Первые порции фильтрата отбрасывают, чтобы освободиться от примесей. Вытяжка должна быть совершенно прозрачной. Если она мутная, ее перефильтровывают.

В зависимости от предполагаемого содержания фосфора берут 5–10–20 мл вытяжки, помещают в мерную колбу на 100 мл, разбавляют дистиллированной водой приблизительно до 80 мл, прибавляют 4 мл 2,5%-го раствора молибденовокислого аммония в серной кислоте (комплексобразователь), доводят водой до метки. Тщательно перемешивают, вносят 6 капель раствора хлористого олова. Колориметрирование следует проводить не позже чем через 10 мин. После окрашивания (длина волны 650–680 нм).

Содержание фосфора в испытуемых растворах определяется сравнением окрашенных исследуемых растворов с окрасками образцовых (эталонных) растворов (табл. 2.17). Для этого готовят шкалу образцовых растворов, предварительно приготовив рабочий эталонный раствор.

Таблица 2.17

Шкала эталонных растворов

№ колбы	Рабочий эталонный раствор P_2O_5 , мл (на 50 мл)	Концентрация $\text{P}_2\text{O}_5 - C_{\text{эт.}}$, мг (в 50 мл)	Оптическая плотность, D
1	1	0,002	
2	2,5	0,005	
3	5	0,01	
4	10	0,02	
5	15	0,03	
6	20	0,04	
7	25	0,05	

Приготовление шкалы образцовых растворов: берут серию мерных колб емкостью 50 мл, наливают туда пипеткой определенное количество рабочего раствора.

Далее в колбы добавляют 2 мл 2,5%-го раствора комплексообразователя – молибденовокислого аммония, доводят водой до метки. Тщательно перемешивают, вносят 2–3 капли хлористого олова.

Для дальнейшего вычисления количества P_2O_5 (в мг на 100 г почвы) используют формулу (2.65)

$$P_2O_5 = \frac{D_{\text{сред. исп.}} \cdot C_{\text{эт}} \cdot V_1 \cdot 100}{D_{\text{эт}} \cdot g \cdot V_2} \cdot K, \quad (2.65)$$

где $D_{\text{сред. исп}}$ – оптическая плотность испытуемого раствора (среднее значение по результатам двух проб); $D_{\text{эт}}$ – оптическая плотность эталонного раствора, взятого для сравнения (из таблицы 2.17); $C_{\text{эт}}$ – концентрация эталонного раствора, мг/мл P_2O_5 (из таблицы 2.17); V_1 – общий объем вытяжки, мл; V_2 – объем вытяжки, взятой для определения, мл; g – навеска почвы, г; K – коэффициент пересчета воздушно-сухой почвы на высушенную при 105 °С (вычисляют исходя из процентного содержания гигроскопической влаги в исследуемом образце).

Таблица 2.19

Обеспеченность почв подвижными фосфатами по содержанию их в вытяжке (мг P_2O_5 на 100 г почвы)

Обеспеченность	Зерновые зернобобовые	Корнеплоды (картофель)	Овощные технические
Очень низкая	2	5	10
Низкая	5	10	15
Средняя	5–10	10–15	15–20
Высокая	10	15	20

По табл. 2.19 сравнить найденное количество P_2O_5 в исследуемой почве с обеспеченностью почвы для различных сельскохозяйственных культур.

Лабораторная работа № 37. Определение кислотности и степени засоленности почв

1. Определение pH почвенных вытяжек и оценка кислотности почвы

Приготовить водную и солевую почвенные вытяжки.

С помощью портативного pH-метра определить величину pH водной и солевой вытяжек для данного образца почвы.

Примечание. pH почвенной вытяжки можно определить также тест-комплексом «рН». Рекомендуются также использование в данной работе тест-комплекта «Кислотность почвы» (ЗАО «Крисмас+», г. С.-Петербург).

Обработка результатов и выводы

Сопоставьте полученные значения величины рН водной и солевой вытяжек с данными табл. 2.20. При этом нужно помнить, что актуальная кислотность определяется по рН в водной почвенной вытяжке ($\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$), а потенциальная кислотность определяется по рН в солевой почвенной вытяжке (pH_{KCl}) [Муравьев А.Г., 2015 а, б].

Определите степень кислотности почвы. Сделайте выводы об экологическом состоянии почвы по результатам определения степени кислотности.

Таблица 2.20

Градации кислотности (щелочности) почв по величине рН водной и солевой вытяжек

Характеристика почвы	$\text{pH}_{\text{H}_2\text{O}}$	Характеристика почвы	pH_{KCl}
Сильнокислые	3,0–4,5	Сильнокислые	$\leq 4,5$
Кислые	4,5–5,5	Среднекислые	4,6–5,0
Слабокислые	5,5–6,5	Слабокислые	5,1–5,5
Нейтральные	6,5–7,0	Близкие к нейтральным	$\geq 5,6$
Слабощелочные	7,0–7,5		
Щелочные	7,5–8,0		
Сильнощелочные	$> 8,5$		

2. Определение засоленности почвы по солевому остатку водной вытяжки

В приготовленной водной почвенной вытяжке определить концентрацию (в мг/л) хлоридов, сульфатов и гидрокарбонатов.

Примечание

1. Для определения засоленности почвы по солевому остатку водной вытяжки удобно использовать полевую комплектную лабораторию определения показателей качества воды «НКВ» (производство ЗАО «Крисмас+», г. С-Петербург).

2. Данная работа может также выполняться при использовании для измерения концентрации хлоридов, сульфатов и гидрокарбонатов соответствующих тест-комплектов, имеющих в составе все необходимое для анализа (производство ЗАО «Крисмас+», г. Санкт-Петербург).

3. При отсутствии соответствующих тест-комплектов можно применить стандартные методики определения хлоридов, сульфатов и гидрокарбонатов [Муравьев А.Г., 2015; Прожорина Т.И., 2006, ч. 1.; Химический анализ..., 2015].

Используя вышепредложенные варианты, находим фактические концентрации хлоридов, сульфатов и гидрокарбонатов (в мг/л) в водной почвенной вытяжке исследуемого почвенного образца.

Чтобы перевести значения концентраций, полученных в водной вытяжке, анионов из «мг/л» в «массовую долю соответствующей соли в почвенном образце в «%», необходимо умножить каждое полученное значение концентрации аниона на коэффициент $5 \cdot 10^{-4}$.

Значение коэффициента « $5 \cdot 10^{-4}$ » определяется величиной коэффициента отношения воды к почве (5:1) и коэффициента перевода единиц измерения из мг/л (в вытяжке) в массовые проценты (в сухой почве).

Обработка результатов и выводы

Сопоставьте данные химического анализа водной вытяжки с данными таблицы 2.21.

Таблица 2.21

Степени и типы засоленности почв в зависимости от концентрации солей

Степень засоленности почв	Тип засоленности в зависимости от типа и массовой доли солей в сухой почве, %		
	хлориды	сульфаты	гидрокарбонаты
Для хлоридно-сульфатного засоления			
Незасоленные	меньше 0,01	—	—
Слабозасоленные	0,01–0,05	—	—
Среднезасоленные	0,05–0,10	—	—
Сильнозасоленные	0,10–0,20	—	—
Солончаки	больше 0,20	—	—
Для сульфатного и хлоридно-сульфатного засоления			
Незасоленные	меньше 0,01	меньше 0,10	—
Слабозасоленные	0,01	0,1–0,4	—
Среднезасоленные	0,05	0,4–0,6	—
Сильнозасоленные	0,10	0,6–0,8	—
Солончаки	больше 0,10	больше 0,8	—
Для содового и смешанного засоления			
Незасоленные	0,01	0,02	меньше 0,06
Слабозасоленные	0,01	0,05–0,1	0,1–0,2
Среднезасоленные	0,1	0,2	0,2–0,3
Сильнозасоленные	0,2	0,2	0,3–0,4
Солончаки	0,2	0,2	больше 0,4

Определите тип и степень засоленности почвы.

Сделайте выводы об экологическом состоянии почвы по результатам определения степени и типа засоленности почвы.

Лабораторная работа № 38. Определение обменной кислотности

Кисотно-основные свойства почв оцениваются при решении практически любых проблем почвоведения, агрохимии, мелиорации, экологии. От кисотно-основных свойств зависит рост и развитие растений; влияют они и на многие другие свойства: подвижность химических элементов, их доступность для растений, емкость катионного обмена, ферментативную активность почв и т.д. Для оценки кислотности и щелочности почв используют две группы показателей.

Первую группу составляют величины рН различных почвенных систем (интенсивный показатель), вторую группу – потенциальная кислотность и общая щелочность (экстенсивный показатель).

Актуальная кислотность почв связана с активностью H^+ -ионов в жидких средах почвенных систем и характеризуется величиной рН, которая зависит от способности присутствующих в почве кислот к диссоциации.

Измерение рН непосредственно в почве проводят довольно редко. Чаще всего рН измеряют в почвенных суспензиях, приготовленных из воздушно-сухих проб потенциометрическим методом.

Потенциальная кислотность позволяет получить представление об общем содержании в почвах кислотных компонентов. В рамках потенциальной кислотности выделяют 2 вида почвенной кислотности.

1. **Обменная кислотность**, характеризующая количество наиболее сильных кислотных компонентов, которые компенсируют перманентные отрицательные заряды ППК и вытесняются из ППК при значении рН, свойственных реальным кислым почвам. Обменная кислотность обусловлена относительно сильными компонентами – главным образом ионами H^+ и Al^{3+} . Ее определяют, обрабатывая навеску почвы небуферным раствором нейтральной соли (KCl; NaCl).

2. **Гидролитическая (рН – зависимая) кислотность**, характеризующая общее количество кислотных компонентов, включая компоненты, обуславливающие обменную кислотность. Эта кислотность проявляется при более высоких, чем обменная, значениях рН.

1. Методика выполнения анализа

Оборудование и материалы

1. Сито с отверстиями диаметром 1–2 мм.
2. Технические весы.
3. Конические колбы на 250 мл.
4. Воронка, фильтр.
5. Бюретка для титрования.
6. Цилиндр на 100 мл.
7. Фенолфталеин.

8. 0,02–0,1 М раствор NaOH (в работе используем 0,02 М раствор NaOH).

9. Приготовление 1 М раствора KCl: 75 г KCl растворяют в 300–400 мл дистиллированной воды, раствор фильтруют и доводят объем до 1 л. Значение pH раствора соответствует 5,6–6,0 (pH дистиллированной воды, находящейся в равновесии с CO₂ атмосферного воздуха, имеет pH около 5,6).

Ход анализа

Навеску почвы, пропущенной через сито с отверстиями диаметром 1–2 мм, массой 40 г, помещают в колбу вместимостью 250 мл. В колбу приливают 150 мл 1 М раствора KCl и взбалтывают в течение 1 часа. Часовое взбалтывание суспензии может быть заменено трехминутным взбалтыванием с последующим суточным настаиванием. Содержимое колбы фильтруют в сухую коническую колбу или другую емкость. Первые 5 мл фильтрата выбрасывают.

После того как суспензия будет профильтрована полностью, готовим две параллельные пробы. По 50 мл фильтрата помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, добавляют 2–3 капли фенолфталеина и титруют 0,02 М раствором NaOH до появления розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин.

Далее проводим *холостой опыт*, для чего также готовим две параллельные пробы: по 50 мл 1 М раствора KCl помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, добавляют 2–3 капли фенолфталеина и титруют 0,02 М раствором NaOH до появления розовой окраски, не исчезающей в течение 1 мин.

Обменную кислотность (ОК) рассчитывают по формуле (2.66)

$$OK = \frac{(V_{\text{сред}} - V_1) \cdot n \cdot V_0 \cdot 100}{V_{\text{ал}} \cdot m}, \quad (2.66)$$

где ОК – обменная кислотность в ммоль/ 100 г почвы; $V_{\text{сред}}$ – объем NaOH, пошедшего на титрование исследуемой почвенной пробы, мл (среднее значение по результатам двух проб); V_1 – объем NaOH, пошедшего на титрование контрольной пробы, мл; n – молярная концентрация NaOH; $V_{\text{ал}}$ и V_0 – объем аликвоты вытяжки и общий объем добавленного к почве 1 М раствора KCl, мл; m – навеска почвы, г.

2. Определение потребности почв в известковании

При определении обменной кислотности почв по величине pH в солевой вытяжке (pH_{KCl}) можно определить нуждаемость почв в известковых удобрениях (CaCO₃ и MgCO₃):

- если pH_{KCl} более 5,5, то почва не нуждается в известковании;
- если pH_{KCl} = 5,0 – 5,5 – слабо нуждается;

- если $pH_{KCl} = 4,5 - 5,0$ – средне нуждается;
- если pH_{KCl} менее 4,5 – сильно нуждается.

Сделать вывод о кислотности исследуемого почвенного образца и необходимости почвы в известковании.

Лабораторная работа № 39. Определение гидролитической кислотности (по методу А.А. Каппена)

Оборудование и материалы

1. Технические весы.
2. Сито с отверстиями диаметром 1 мм.
3. Колбы емкостью 250, 500 мл.
4. Цилиндр на 100 мл.
5. Воронка.
6. Складчатый фильтр.
7. Пипетка Мора на 25 мл.

Растворы

1. 1 н раствор $CH_3COONa \cdot 3H_2O$ отвешивают на технических весах 136 г трехводного углекислого натрия, растворяют примерно в 500 мл дистиллированной воды, если нужно, фильтруют и доводят раствор водой до 1 л.

2. 1%-й раствор фенолфталеина в этиловом спирте.

3. 0,1 н раствор NaOH готовят растворением 4 г NaOH в одном литре воды без CO_2 . Нормальность устанавливается по фиксаналу кислоты в присутствии метилового оранжевого.

Ход анализа

На технических весах отвешивают 60 г воздушно-сухой почвы, пропущенной через сито с отверстиями диаметром 1 мм. Навеску почвы помещают в колбу емкостью 250–500 мл, приливают 150 мл 1,0 н раствора CH_3COONa , закрывают пробкой и взбалтывают 1 час. Часовое взбалтывание можно заменить трехминутным с последующим отстаиванием в течение суток и периодическим (4–5 раз) взбалтыванием.

Раствор фильтруют через складчатый фильтр диаметром 11–12,5 см (с подкладкой). Перед фильтрованием содержимое склянки взбалтывают от руки и переносят на фильтр большую часть почвы. Первые 5–10 мл фильтрата отбрасывают, чтобы удалить примеси, перешедшие из фильтра. В дальнейшем, если фильтрат мутный, его перефильтровывают через тот же фильтр. Готовят две параллельные пробы. Берут пипеткой 25 мл прозрачного фильтрата, помещают в коническую колбу емкостью 100 мл, прибавляют 2–3 капли фенолфталеина и титруют 0,1 н раствором NaOH до слабо-розовой окраски, не исчезающей 1 минуту. Титрование проводят «со свидетелем».

По количеству затраченной на титрование щелочи вычисляют величину гидролитической кислотности в ммоль H^+ на 100 г воздушно-сухой почвы (2.67):

$$ГК = \frac{A_{\text{сред}} \cdot N \cdot V_1 \cdot 1,75 \cdot 100}{г \cdot V_2} \cdot K, \quad (2.67)$$

где ГК – гидролитическая кислотность в ммоль H^+ на 100 г почвы; $A_{\text{сред}}$ – количество 0,1 н раствора NaOH, пошедшего на титрование взятого объема фильтрата, мл (среднее значение по результатам двух проб); N – нормальность раствора NaOH; 1,75 – коэффициент на полноту вытеснения поглощенного водорода; K – коэффициент гигроскопичности почвы; V_1 – общий объем фильтрата, мл; V_2 – объем фильтрата, взятого для определения, мл; г – навеска почвы, г.

Расчет дозы извести

При высокой кислотности почвы для оптимального ее использования в сельском хозяйстве необходимо проводить известкование.

Расчет дозы извести определяется по общей гидролитической кислотности, которая дает более полную величину кислотности почвы.

Гидролитическая кислотность (общая ГК)	=	Гидролитическая кислотность (ГК)	+	Обменная кислотность (ОК)	+	Актualityная кислотность (АК)
--	---	----------------------------------	---	---------------------------	---	-------------------------------

Примечание: значение АК исследуемого почвенного образца берутся по результатам лабораторной работы № 37, ОК – лабораторной работы № 38, ГК – лабораторной работы № 39.

Потребность почв в извести (ППИ) измеряется в т/га и рассчитывается по формуле (2.68)

$$ППИ \left(\frac{т}{га} \right) = \frac{ГК \cdot 10^8 \cdot h \cdot \rho \cdot 50}{100 \cdot 10^6 \cdot 1000}, \quad (2.68)$$

где ГК – общая гидролитическая кислотность, ммоль/100 г почвы; h – мощность слоя почвы, см; ρ – плотность сложения почвы, г/см³; 50 – молярная масса эквивалента $CaCO_3$, г/моль; 50/1000 – перевод из г/моль в г/ммоль.

В ходе определения гидролитической кислотности CH_3COONa реагирует одновременно с почвенным раствором и твердой фазой почвы, эти реакции идут до установления динамического равновесия. Поэтому нельзя учесть всю потенциальную кислотность почвы. При расчетах дозы извести вводят поправочный коэффициент равный 1,75.

Лабораторная работа № 40. Качественное обнаружение тяжелых металлов (Pb, Cu, Fe) в почвах

Окружающая среда прямо и косвенно влияет на здоровье человека. Воздухом человек дышит, вода входит в состав пищевых продуктов, на почве произрастают необходимые для нашего питания продукты – вот основные способы воздействия окружающей среды на здоровье человека. Загрязнения воздуха, воды и почвы образуют основные химические факторы среды. Кроме химических факторов загрязнения среды, выделяют еще физические (шум, вибрация, электромагнитные поля и т.п.), микробиологические (загрязнения патогенными микроорганизмами), радиационные. В каждом случае необходимо рассматривать конкретные факторы воздействия окружающей среды на здоровье человека и соответствующие показатели. Рассмотрим некоторые из них [Ковальский В.В., 1983].

Большинство химических элементов входит в состав живых организмов, в том числе и организма человека. Избыток или недостаток тех или иных элементов в организме приводит к заболеванию, а попадание в живой организм соединений некоторых элементов нередко приводит к тяжелым последствиям. Особое место в этой связи занимают соединения, содержащие тяжелые металлы. Соединения тяжелых металлов токсичны, некоторые из них оказывают канцерогенное воздействие на организм человека

Свинец и его влияние на живые организмы. Соединения свинца являются загрязнителями воздуха и почвы, куда они попадают преимущественно с выбросами некоторых промышленных предприятий.

Токсическое действие свинца связано с его способностью замещать кальций в костях и нервных волокнах. Отравление человека свинцом проявляется неспецифическими симптомами: вначале появляется повышенная возбудимость и бессонница, позже утомляемость и депрессия. Более поздние симптомы заключаются в расстройстве функций нервной системы и поражении головного мозга. Свинец, как и другие тяжелые металлы (кадмий, ртуть), отрицательно влияет на реакцию глазной сетчатки, вызывает ухудшение сумеречного зрения.

Пыль, содержащая соединения свинца, оседает на растения и вызывает у них замедление процесса фотосинтеза. Ионы свинца вызывают потерю клетками растений тургора, в результате чего листья становятся дряблыми. Загрязнение свинцом объектов окружающей среды приводит к существенному снижению качества сельскохозяйственной продукции.

Медь и здоровье человека. Содержание меди в виде различных соединений в человеческом организме составляет около 1 мг на 1 кг веса. Медь для человека является микроэлементом. Недостаток меди приводит к ухудшению состояния кровеносных сосудов, заболеванию костной систе-

мы, возникновению опухолей; избыток же меди в различных тканях приводит к тяжелым кожным заболеваниям: красной волчанке, артриту и др.

Железо и здоровье человека. В организме человека весом 70 кг примерно 3,5 г железа в виде различных соединений. Основная масса железа находится в эритроцитах крови. Именно железо помогает захватывать кислород и отдавать его там, где он необходим. При недостатке железа наступает малокровие (анемия).

Проводимые в данной работе эксперименты позволяют ознакомиться с качественными реакциями на ионы распространенных в почвах тяжелых металлов – свинца, меди, железа, и качественно обнаружить их наличие в реальных и смоделированных пробах почвы.

Оборудование и материалы

1. Воронка стеклянная с диаметром 10 см.
2. Колба коническая на 250 мл.
3. Палочка стеклянная.
4. Фильтр бумажный.
5. Стакан 250 мл.
6. Цилиндр мерный на 100 мл. 1,5 н раствор HNO_3 .
7. Образец почвы.
8. Пробирки.
9. Штатив для пробирок.
10. Пипетки на 1 и 5 мл.
11. Раствор роданида калия 5%-й KCNS (или аммония – $\text{NH}_4 \text{CNS}$).
12. Раствор железисто-синеродистого калия 5%-й $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$.
13. Раствор азотнокислого свинца 5%-й $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$.
14. Раствор йодида калия 5%-й KI .
15. Раствор хромата калия 5%-й K_2CrO_4 .
16. Раствор хлорида натрия 5%-й NaCl .
17. Раствор хлорида железа 5%-й FeCl_3 .
18. Раствор сульфата меди 5-водный 5%-й $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$.
19. Раствор аммиака 10%-й.

1. Приготовление кислотной почвенной вытяжки

Для определения ионов тяжелых металлов в исследуемой почве необходимо приготовить кислотную почвенную вытяжку по методике, описанной в работе № 34.

2. Обнаружение тяжелых металлов

Возьмите 6 пробирок и пронумеруйте их. В 3 пробирки наливаем модельные растворы, а в другие 3 пробирки – кислотные вытяжки исследуемого почвенного образца. Проводим качественные реакции по нижеописанной методике.

2.1. Обнаружение ионов свинца

1. В пробирку пипеткой налейте 3–4 мл модельного 5%-го раствора азотнокислого свинца $[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2]$ и добавьте 1 мл 5%-го раствора

хлорида натрия (NaCl). В присутствии свинца выпадет белый осадок. Напишите полное и сокращенное ионные уравнения реакций, используя таблицу растворимости (приложение 3).

2. В пробирку пипеткой налейте 3–4 мл модельного 5%-го раствора азотнокислого свинца $[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2]$ и добавьте 1 мл 5%-го раствора йодида калия (KI). В присутствии свинца выпадет желтый осадок. Напишите полное и сокращенное ионные уравнения реакций, используя таблицу растворимости.

3. В пробирку пипеткой налейте 3–4 мл модельного 5%-го раствора азотнокислого свинца $[\text{Pb}(\text{NO}_3)_2]$ и добавьте 1 мл 5%-го раствора хромата калия (K_2CrO_4). В присутствии свинца выпадает желтый осадок. Напишите полное и сокращенное ионные уравнения реакций, используя таблицу растворимости.

4. Повторите те же реакции, но вместо модельного раствора азотнокислого свинца в пробирку налейте 3–4 мл кислотной вытяжки исследуемого почвенного образца. Если в почве присутствует свинец, то выпадет белый или желтый осадок в зависимости от реакции.

2.2 Обнаружение ионов меди

1. В пробирку пипеткой налейте 3–4 мл 5%-го раствора сульфата меди (CuSO_4), прилейте в нее 2–3 мл (избыток) 10%-го раствора аммиака (NH_4OH), перемешайте содержимое пробирки. Образующийся вначале осадок растворяется, и раствор приобретает характерную интенсивную лазурно-синюю окраску. Напишите полные и сокращенные ионные уравнения реакций, используя таблицу растворимости (приложение 3).

2. В пробирку пипеткой налейте 3–4 мл 5%-го раствора сульфата меди (CuSO_4), прилейте 1 мл 5%-го раствора железисто-синеродистого калия (желтой кровяной соли) – $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Выпадает красно-бурый осадок. Напишите полное и сокращенное ионные уравнения реакций, используя таблицу растворимости.

3. Повторите те же реакции, но вместо модельного раствора сульфата меди в пробирку налейте 3–4 мл кислотной вытяжки исследуемого почвенного образца. Если в почве присутствует медь, то выпадет лазурно-синий или красно-бурый осадок в зависимости от реакции.

2.3 Обнаружение ионов железа

1. В пробирку пипеткой налейте 3–4 мл 5%-го раствора хлорида железа (FeCl_3), прилейте 1 мл 5%-го раствора железисто-синеродистого калия ($\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$). Выпадает темно-синий осадок берлинской лазури.

2. В пробирку пипеткой налейте 3–4 мл 5%-го раствора хлорида железа (FeCl_3), прилейте 1 мл 5%-го раствора роданида калия (KCNS) (или аммония). Содержимое пробирки окрашивается в кроваво-красный цвет.

3. Повторите те же реакции, но вместо модельного раствора хлорида железа в пробирку налейте 3–4 мл кислотной вытяжки исследуемо-

го почвенного образца. Если в почве присутствует железо, то выпадет темно-синий или кроваво-красный осадок в зависимости от реакции.

Обработка результатов

В результате проведенных качественных реакций сделайте вывод о том, обнаружено или нет присутствие тяжелых металлов (свинца, меди, железа) в исследуемом почвенном образце [Прожорина Т.И., 2009, ч. 2].

Примечание. Полуколичественные определения можно выполнить с помощью тест-систем «Феррум-тест», «Купрум-тест» или тест-комплектов (ЗАО «Крисмас+, г. С.-Петербург).

Лабораторная работа № 41. Фотометрическое определение общего содержания марганца в почве

Определение основано на окислении ионов марганца аммонием надсерноокислым в серноокислом растворе в присутствии нитрата серебра и фосфорной кислоты и последующем фотометрическом анализе окрашенного раствора [Дмитриев М.Т., 1989, Каверина Н.В., 2006].

Нижний предел обнаружения 0,2 мкг/мл раствора, точность измерения $\pm 25\%$, измеряемые концентрации 0,166–16,6 г/кг почвы.

Выполнение работы возможно с применением тест-комплектов, готовых компонентов и принадлежностей производства ЗАО «Крисмас+». Подробная информация представлена в приложении.

Оборудование и материалы

1. Фотоколориметр со светофильтром с максимальным поглощением света при $L = 530$ нм с кюветой с толщиной слоя 50 мм.
2. Аппарат для встряхивания.
3. Посуда мерная (колба, пипетка).
4. Стаканы химические.
5. Колбы конические.
6. Воронки стеклянные.
7. Фильтры беззольные «синяя лента».
8. Серная кислота, хч, пл. $1,84 \text{ г/см}^3$, 0,1 и 10% растворы.
9. Азотная кислота, хч, пл. $1,4 \text{ г/см}^3$.
10. Перекись водорода, хч, 30% раствор.
11. Ортофосфорная кислота, пл. $1,7 \text{ г/см}^3$.
12. Серебра нитрат, чда. 1% раствор.
13. Аммоний надсерноокислый.
14. Калия перманганат (фиксанал), 0,1 и 0,001 н. растворы, 1 мл 0,001 н, раствора содержит 11 мкг марганца.
15. Бидистиллированная вода.
16. Ступка фарфоровая.

Градуировочный график

В мерные колбы вместимостью 50 мл вносят 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 25,0 мл 0,001 н раствора перманганата калия и объем доводят до метки бидистиллированной водой. Измеряют оптическую плотность окрашенных растворов при $L = 530$ нм. По средним результатам строят график зависимости оптической плотности от объема 0,001 н раствора перманганата калия (мл).

Ход анализа

Почву доводят до воздушно-сухого состояния, просеивают через сито с отверстиями диаметром 1 мм. Помещают 5 г почвы в колбу с притертой пробкой, приливают 50 мл 0,1 н серной кислоты и встряхивают на аппарате 1 час. Смесь фильтруют через фильтр «синяя лента», 10 мл фильтрата помещают в стакан вместимостью 50 мл, приливают 5 мл азотной кислоты пл. $1,4 \text{ г/см}^3$ и 2 мл перекиси водорода, нагревают до образования сухого остатка. Затем остаток растворяют в 25 мл 10%-го серной кислоты, нагревая его до полного растворения. К раствору приливают 15 мл воды, 2 мл 1%-го раствора нитрата серебра и 2 мл ортофосфорной кислоты. Смесь нагревают 5–10 мин на электрической плитке. Если раствор помутнеет, его фильтруют. Затем к раствору прибавляют 2 г аммония надсерноокислого (малыми порциями), перемешивают и ставят на горячую электрическую плитку на 10–15 мин для окисления марганца. По окончании выделения пузырьков озона раствор охлаждают, переливают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем до метки дистиллированной водой. Измеряют оптическую плотность растворов при $L = 530$ нм по отношению к 5%-й серной кислоте. Содержание перманганата калия (мл) находят по градуировочному графику.

Расчет

Концентрацию марганца в пробе (А) почвы (мг/кг) вычисляют по формуле (2.69)

$$A = \frac{c \cdot 11}{b}, \quad (2.69)$$

где c – количество марганца, найденное в пробе по градуировочному графику, мкг; b – масса исследуемой почвы, г; 11 – содержание марганца в 1 мл 0,001 н раствора перманганата калия, мкг/мл.

Лабораторная работа № 42. Фотометрическое определение подвижных форм кобальта в почве

Определение основано на извлечении кобальта из почвы ацетатно-натриевым буферным раствором, образовании комплексного соединения кобальта с нитрозо-R-солью и фотометрическом анализе окрашенного соединения [Дмитриев М.Т., 1989, Каверина Н.В., 2006].

Нижний предел обнаружения 0,08 мг/кг, измеряемые концентрации 0,08–20,0 мг/кг почвы, точность измерения $\pm 25\%$.

Оборудование и материалы

1. Фотоколориметр со светофильтром с максимумом поглощения при $L = 536$ нм с кюветой с толщиной слоя 20 мм.

2. Посуда мерная стеклянная.

3. Аппарат для встряхивания.

4. Азотная кислота, пл. 1,4 г/см³.

5. Уксусная кислота ледяная, хч.

6. Натрия цитрат (трехзамещенный), чда, 20% раствор

7. Натрия ацетат, чда, 40% раствор.

8. Нитрозой-соль, 0,05% водный раствор.

9. Кобальта сульфат $\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, чда.

10. Перекись водорода.

11. Серная кислота, пл. 1,84 г/см³.

Растворы

1. **Ацетатный буферный раствор с $\text{pH}=4,7$** для разных почв. Готовят 1 М растворы уксусной кислоты и ацетата натрия: 60 мл ледяной уксусной кислоты разбавляют бидистиллированной водой до 1 л, 86 г безводного ацетата натрия растворяют в 1 л воды.

2. Для получения **ацетатного буферного раствора с $\text{pH}=3,5$** к 925 мл 1 М раствора уксусной кислоты прибавляют 75 мл 1 М раствора ацетата натрия. Раствор тщательно перемешивают, оставляют на 2 суток и устанавливают pH. При отклонении pH от 3,5 в раствор добавляют кислоту или раствор ацетата натрия.

3. **Исходный стандартный раствор** кобальта, содержащий 100 мкг/мл Со. Растворяют 0,0477 г сульфата кобальта в мерной колбе вместимостью 100 мл в небольшом количестве бидистиллированной воды, добавляя 1 мл серной кислоты пл. 1,84 г/см³. Объем раствора в колбе доводят водой до метки.

4. **Рабочий стандартный раствор** кобальта, содержащий 10 мкг/мл Со, готовят соответствующим разбавлением исходного стандартного раствора бидистиллированной водой.

Градуировочный график

В колбы вносят 0; 0,1; 0,5; 1,0; 1,5; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0; мл рабочего стандартного раствора кобальта, объем доводят до 60 мл буферным раствором. Содержимое колб перемешивают, переносят в стаканы, прибавляют по 1 мл концентрированной азотной кислоты и перекиси водорода. Смесь нагревают до кристаллизации солей. Операцию повторяют дважды и затем обрабатывают в условиях анализа пробы. Измеряют оптическую плотность окрашенных растворов стандартов при $L = 536$ нм. По полученным средним результатам из двух определений каждого стандарта строят график зависимости оптической плотности от содержания кобальта (мкг).

Ход анализа

Помещают 30 г воздушно-сухой почвы в колбу с притертой пробкой вместимостью 0,5 л, прибавляют 150 мл буферного раствора и периодически взбалтывают круговыми движениями 10 мин. Колбу устанавливают на аппарат для встряхивания на 30 мин и затем фильтруют через фильтр «синяя лента». Переносят 60 мл фильтрата в стакан, прибавляют 1 мл концентрированной азотной кислоты, 1 мл раствора перекиси водорода и выпаривают до кристаллизации солей. Операцию повторяют дважды. Остаток растворяют в 1 мл воды, добавляют 5 капель концентрированной азотной кислоты и нагревают до кипения. Приливают 1 мл 20%-го раствора цитрата натрия, 1 мл 40%-го раствора ацетата натрия, pH раствора должно быть 5,5. При необходимости доводят pH до 5,5, добавляя раствор ацетата натрия. К анализируемому раствору прибавляют 1 мл раствора нитрозо-R-соли, 5 мл воды и доводят до кипения. Раствор переносят в пробирку и доводят объем водой до 10 мл (если объем меньше 10 мл) или до 20 мл (если объем больше 10 мл) и измеряют оптическую плотность при $L = 536$ нм по отношению к дистиллированной воде. Содержание кобальта в пробе находят по градуировочному графику.

Расчет

Концентрацию кобальта в почве (R) в (мг/кг) вычисляют по формуле (2.70):

$$R = \frac{c \cdot V_1}{V \cdot b}, \quad (2.70)$$

где c – количество кобальта, найденного в пробе по градуировочному графику, мкг; V_1 – общий объем раствора пробы, мл; V – объем раствора пробы, используемой для анализа, мл; b – масса исследуемой пробы, г.

Лабораторная работа № 43. Фотометрическое определение общего содержания ванадия в почве

Определение основано на образовании фосфорно-вольфрамово-ванадиевого комплекса при взаимодействии ионов ванадия с фосфорной кислотой и вольфрамом натрия и последующем фотометрическом анализе окрашенного соединения [Дмитриев М.Т., 1989, Каверина Н.В., 2006].

Нижний предел обнаружения 0,5 мг/кг, точность измерения $\pm 5,3$ %, измеряемые концентрации от 0,5 до 5,0 мг/кг почвы. Метод избирателен в присутствии других металлов.

Оборудование и материалы

1. Фотоколориметр со светофильтром с максимумом поглощения при $L = 413$ нм.

2. Печь муфельная с термопарой или регулятором температуры.

3. Фильтры беззольные «синяя лента».
4. Посуда стеклянная мерная.
5. Соляная кислота, хч, пл. 1,19 г/см³, 22%-й раствор.
6. Серная кислота, пл. 1,84 г/см³, 10 и 50%-е растворы.
7. Калия перманганат, хч, 2%-й раствор.
8. Натрия нитрит, 0,5%-й раствор.
9. Натрий вольфрамово-кислый, 5%-й раствор.
10. Аммония ванадиевокислый, хч
11. Ванадия оксид, чда
12. Натрия гидроксид, 5%-й раствор.
13. Перекись водорода.
14. Хлорная кислота, хч, 35–40%-й раствор
15. Фарфоровая посуда.

Растворы

1. Железа хлорид $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, раствор. Растворяют 24,2 г хлорида железа в воде в мерной колбе вместимостью 1 л, подкисляют 10 мл 22%-го раствора соляной кислоты и доводят водой до метки.

2. Исходный стандартный раствор ванадия, содержащий 1 мг/мл V. Растворяют при нагревании 2,3 г ванадата аммония или 1,785 г оксида ванадия (V), прокаленного при 450 °С в 10 мл 5%-го прозрачного раствора гидроксида натрия, нейтрализуют 10%-й серной кислотой, переносят в мерную колбу вместимостью 1 л, доводят объем раствора до метки водой.

3. Рабочие стандартные растворы, содержащие 100 и 10 мкг/мл V, готовят из исходного стандартного раствора ванадия соответствующим разбавлением водой.

Градуировочный график

В стаканы вместимостью 100–200 мл вносят 0; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0; 12,5 мл рабочего стандартного раствора ванадия концентрации 10 мкг/мл, что соответствует содержанию в стандарте 0, 10; 25, 50; 75; 100; 125 мкг ванадия. Затем к каждому стандарту прибавляют по 8 мл 22%-й соляной кислоты и по 5 мл раствора хлорида железа. После этого для окисления ванадия прибавляют 2%-й раствор перманганата калия до появления устойчивой розовой или бурой окраски, затем прибавляют 2–3 капли 0,5%-го раствора нитрата натрия до исчезновения окраски. Для разрушения избытка нитрита натрия прибавляют 2–3 капли перманганата калия до появления слегка розового оттенка, исчезающего в течение 1 мин. Содержимое перемешивают, прибавляют 5 мл 5%-го раствора вольфрама натрия, нагревают до кипения и кипятят 5 мин. Охлажденный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят до метки водой. При помутнении растворов фильтруют через плотный

фильтр и не ранее чем через 1 ч после кипячения измеряют оптическую плотность раствора в кювете с толщиной слоя 10–30 мм при $L = 413$ нм относительно контрольной пробы, которую готовят одновременно с обработкой пробы из 10–30 мл воды.

Ход анализа

Пробу почвы высушивают до воздушно-сухого состояния при комнатной температуре, удаляют посторонние включения, растирают в ступке и просеивают через сито с диаметром отверстий 1 мм. Из просеянной почвы берут среднюю пробу 100–120 г, которую вновь растирают в ступке и просеивают через капроновое сито с диаметром отверстий 0,25 мм. Растирают 10 г почвы в ступке до состояния пудры. Далее 3 г пробы помещают в фарфоровую чашку емкостью 100 мл, помещают в холодную муфельную печь, постепенно поднимают температуру и прокаливают 3 ч при 400–500 °С.

После прокаливания пробу охлаждают и прибавляют по 5 мл концентрированных азотной и серной кислот и 2 мл перекиси водорода; нагревают на электрической плитке с закрытой спиралью до появления белых паров. Пробу обрабатывают 3–4 раза азотной кислотой и перекисью водорода в тех же количествах, в каждом случае выпаривая до появления белых паров. В конце обработки прибавляют еще 0,5 мл серной кислоты и 3 мл азотной кислоты и выпаривают досуха. Прибавляют 5 мл 22%-й соляной кислоты и 3 мл хлорной кислоты и выпаривают досуха, затем дважды прибавляют по 5 мл воды и после каждого прибавления выпаривают досуха.

К сухому остатку прибавляют 5 мл 22%-й соляной кислоты и выпаривают досуха. Прибавляют еще 22%-ю соляную кислоту и 10 мл горячей воды, нагревают и осторожно фильтруют через фильтр средней плотности. К остатку 5–6 раз прибавляют по 1,5 мл соляной кислоты и 5 мл горячей воды, каждый раз нагревая, фильтруют и переносят остаток на фильтр, промывают горячей водой, подкисленной соляной кислотой (98: 2) до отсутствия реакции на железо с роданидом калия.

Фильтрат упаривают в той же колбе до объема 40–45 мл, переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и отбирают для анализа 10–30 мл. К раствору прибавляют 3 мл серной кислоты (1 : 1), 2%-й раствор перманганата калия до устойчивой розовой или бурой окраски, не исчезающей в течение 5 мин, затем прибавляют 2–3 капли 0,5%-го раствора нитрита натрия до исчезновения окраски. Для разрушения избытка нитрита натрия прибавляют 2–3 капли перманганата калия до появления слегка розового оттенка, исчезающего в течение 1 мин. Для маскирования титана, железа и алюминия прибавляют 10 мл 4%-го раствора фторида натрия и 10 мл ортофосфорной кислоты. Содержимое перемешивают, прибавляют 5 мл

5%-го раствора вольфрамата натрия, нагревают до кипения и кипятят 5 мин. Охлажденный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят до метки водой. При помутнении растворов фильтруют их через плотный фильтр и не ранее чем через 1 ч после кипячения измеряют оптическую плотность раствора в кювете с толщиной слоя 10–30 мм при $L = 413$ нм относительно контрольной пробы, которую готовят одновременно с обработкой пробы из 10–30 мл воды. По градуировочному графику находят содержание ванадия в пробе.

Расчет

Концентрацию ванадия в почве (F) в мг/кг вычисляют по формуле (2.71)

$$F = \frac{c \cdot V_1}{V \cdot b}, \quad (2.71)$$

где c – количество ванадия, найденного в пробе по градуировочному графику, мкг; V_1 – общий объем раствора пробы, мл; V – объем раствора пробы, используемой для анализа, мл; b – масса исследуемой пробы, г.

Лабораторная работа № 44. Фотометрическое определение вольфрама в почве

Определение основано на образовании комплексного соединения вольфрама с роданидом аммония в присутствии восстановителя трихлорида титана, окрашенного в желтый цвет, и последующем анализе окрашенного соединения [Дмитриев М.Т., 1989, Каверина Н.В., 2006].

Нижний предел обнаружения 10 мкг в анализируемом объеме раствора, измеряемые концентрации от 6 до 139 мг/кг почвы.

Оборудование и материалы

1. Фотоколориметр со светофильтром с максимальным поглощением света при $L = 400 - 460$ нм.

2. Муфельная печь с терморегулятором.

3. Посуда мерная стеклянная.

4. Фильтры беззольные «синяя лента».

5. Тигли фарфоровые.

6. Аммония роданид, 50%-й раствор.

7. Калия роданид, 50%-й раствор.

8. Натрия гидроксид, чда, 2%-й раствор.

9. Соляная кислота, хч, пл. 1,19 г/см³, разбавленная (1:1).

10. Хлорид титана.

11. Перекись водорода.

12. Натрия вольфрамат, хч.

Растворы

1. Исходный стандартный раствор вольфрама, содержащий 1 мг/мл W. Растворяют 0,3588 г вольфрамата натрия в мерной колбе вместимостью 200 мл в небольшом объеме дистиллированной воды с 4 г гидроксида натрия при нагревании и доводят объем после охлаждения до метки водой.

2. Рабочий стандартный раствор, содержащий 0,1 мг/мл вольфрама, готовят соответствующим разбавлением исходного стандартного раствора 2 %-м раствором гидроксида натрия.

Градуировочный график

В мерные колбы вместимостью 50 мл вносят 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0 мл рабочего стандартного раствора. Содержание вольфрама в них 0,01; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; 0,1 мг. Объем в колбах доводят до 20 мл 2%-м раствором гидроксида натрия, прибавляют по 10 мл соляной кислоты пл. 1,19 г/см³ и по 1 мл раствора роданида аммония. Смесь перемешивают и по каплям вносят раствор хлорида титана. Объем доводят до метки соляной кислотой (1:1), перемешивают и через 10 мин измеряют оптическую плотность растворов при $L = 460$ нм по отношению к дистиллированной воде. Одновременно со стандартными образцами готовят контрольный образец со всеми реактивами, которые используют при приготовлении стандартов с нулевым содержанием вольфрама. По средним результатам строят график зависимости оптической плотности от содержания вольфрама (мкг).

Ход анализа

1. Определение общего содержания вольфрама

Пробы почвы высушивают до воздушно-сухого состояния, тщательно перемешивают, просеивают через сито с отверстиями диаметром 0,2 мм. Для анализа способом квартования отбирают навеску 1 г и сплавляют с 10 г гидроксида натрия (плавленого) в тиглях 45 мин при 500–600 °С. Плав выщелачивают в горячей воде, добавляют 30%-й раствор перекиси водорода и кипятят до удаления перекиси водорода. Раствор переводят в мерную колбу вместимостью 100 мл и фильтруют. Переносят 5 мл фильтрата в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 15 мл 2%-го раствора гидроксида натрия, 10 мл соляной кислоты пл. 1,19 г/см³ и 1 мл 50%-го раствора роданида аммония. После тщательного перемешивания при постоянном встряхивании добавляют по каплям раствор хлорид титана до исчезновения красной окраски роданида железа и дополнительно избыток (3–4 капли). После восстановления раствор в колбе доводят до метки соляной кислотой (1:1), перемешивают и через 10 мин измеряют оптическую плотность окрашенного раствора при $L = 460$ нм в кювете с толщиной слоя 50 мм по отношению к дистиллированной воде.

2. Определение содержания растворимого вольфрама

Навеску почвы 20 г, просеянной через сито с ячейками 1 мм, помещают в колбу вместимостью 250 мл, приливают 100 мл дистиллированной воды, кипятят 45–60 мин и фильтруют. Переносят 5–10 мл фильтрата в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем до 20 мл 2%-м раствором гидроксида натрия, прибавляют 10 мл соляной кислоты пл. 1,19 г/см³ и 1 мл раствора роданида аммония. Смесь перемешивают, добавляют по каплям раствор хлорида титана до исчезновения красной окраски и еще 3-4 капли. Доводят объем до метки разбавленной (1:1) соляной кислотой и измеряют оптическую плотность при $L = 460$ нм по отношению к воде. Содержание вольфрама в пробе находят по градуировочному графику.

Расчет

Концентрацию вольфрама в почве (W) в (мг/кг) рассчитывают по формуле (2.72)

$$W = \frac{c \cdot V_1}{V \cdot b}, \quad (2.72)$$

где c – количество вольфрама, найденного в пробе по градуировочному графику, мкг; V_1 – общий объем раствора пробы, мл; V – объем раствора пробы, используемой для анализа, мл; b – масса исследуемой пробы, г.

Лабораторная работа № 45. Фотометрический метод определения поверхностно-активных веществ в почве

Определение основано на образовании комплексного соединения, окрашенного в синий цвет, при взаимодействии поверхностно-активного соединения с метиленовым синим. Этим методом измеряются концентрации от 0,2 до 20 мг/кг [Дмитриев М.Т., 1989, Каверина Н.В., 2006].

Оборудование и материалы

1. Фотоколориметр со светофильтром с максимальным поглощением света при $L = 625 - 750$ нм с кюветой с толщиной слоя 20 мм.
2. Серная кислота, пл. 1,84 г/см³.
3. Хлороформ.
4. Этанол, 70%-й раствор.
5. Сушильный шкаф.
6. Ступка фарфоровая.
7. Стекланные делительные воронки
8. Фильтры беззольные «синяя лента».

Растворы

1. **Метиленовый синий, водный раствор.** Приготовление: 0,35 г метиленового синего растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1 дм³.

2. Метиленовый синий, кислотный раствор. Приготовление: 0,35 г метиленового синего растворяют в 500 мл воды в мерной колбе вместимостью 1 дм³, добавляют 6,5 мл серной кислоты пл. 1,84 г/см³ и доводят объем до метки водой.

3. Раствор натрия гидроксид, содержащий 5,04 г гидроксида натрия в 630 мл воды.

4. Раствор калия фосфат KH_2PO_4 , содержащий 16,3308 г фосфата калия в 1,2 дм³ дистиллированной воды.

5. Фосфатный буферный раствор с pH = 10, готовят смешением равных объемов растворов фосфата калия и гидроксида натрия.

6. Исходный стандартный раствор алкилсульфоната натрия, содержащий 500 мкг/мл препарата. Растворяют 0,5 г ПАВ в воде в мерной колбе вместимостью 1 дм³ в дистиллированной воде.

7. Рабочий стандартный раствор, содержанием 1 мкг/мл ПАВ, готовят из исходного стандартного раствора алкилсульфоната натрия соответствующим разбавлением водой.

Градуировочный график

В мерные колбы вместимостью 100 мл вносят 0; 2; 5; 10; 15; 20 мл рабочего стандартного раствора ПАВ, объем растворов доводят до 100 мл водой и анализируют в условиях анализа проб. Измеряют оптическую плотность окрашенных хлороформных экстрактов стандартов по отношению к контрольной пробе, не содержащей ПАВ, и по средним результатам строят график зависимости оптической плотности от содержания ПАВ (мкг).

Ход анализа

Методом квартования отбирают часть средней пробы (100–200 г) и высушивают в сушильном шкафу при 105 °С до постоянной массы (3–4 часа). Затем почву растирают до состояния пудры в фарфоровой ступке и навеску 1 г переносят в коническую колбу вместимостью 100 мл. В колбу вливают 25 мл 70%-го этанола, нагретого до кипения, и смесь перемешивают 3 мин.

Экстракт фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 мл, объем фильтра доводят до метки дистиллированной водой и перемешивают. Раствор переносят в делительную воронку вместимостью 250 мл, добавляют 10 мл фосфатного буферного раствора, 5 мл водного раствора метиленового синего, перемешивают и оставляют на 15 мин. Затем добавляют 8 мл хлороформа и воронку интенсивно встряхивают 1 минуту. После расслоения жидкостей хлороформный слой переносят в другую делительную воронку, содержащую 110 мл дистиллированной воды и 5 мл кислотного раствора метиленового синего. Смесь встряхивают 1 минуту и оставляют до расслоения жидкостей. Хлороформный слой фильтруют через воронку с плотным фильтром в пробирку с притертой проб-

кой. Извлечение ПАВ из водного раствора повторяют с 9 мл хлороформа. Хлороформные экстракты объединяют и измеряют оптическую плотность окрашенного раствора на фотоколориметре при $L = 625-750$ нм. Содержание ПАВ находят по градуировочному графику.

Расчет

Концентрацию анионоактивных поверхностных веществ ($C_{\text{ПАВ}}$) в почве с (мг/кг) вычисляют по формуле (2.73)

$$C_{\text{ПАВ}} = \frac{c \cdot V_1}{V \cdot b}, \quad (2.73)$$

где c – количество ПАВ, найденное в пробе по градуировочному графику, мкг; V_1 – общий объем раствора пробы, мл; V – объем раствора пробы, используемой для анализа, мл; b – масса исследуемой пробы после приведения ее к воздушно-сухому состоянию, г.

Лабораторная работа № 46. Гравиметрический метод определения нефтепродуктов в почве

Метод основан на экстракции нефтезагрязненных почв органическими растворителями с последующим взвешиванием [РД 39-0147098-015-90, 1989].

Оборудование и материалы

1. Весы аналитические.
2. Весы технические.
3. Шкаф вытяжной.
4. Стекланные стаканчики (по 50 мл).
5. Фарфоровые чашки (100 мл).
6. Стекланные палочки.
7. Штативы металлические.
8. Колонки стекланные.
9. Окись алюминия.
10. Вата медицинская.
11. Хлороформ.
12. Гексан.

Ход анализа

Подготавливают образцы для исследования (высушивают, растирают в ступке и просеивают через почвенные сита с диаметром ячеек 1 мм). Из пробы отбирают аналитическую пробу массой 100 г. На технических весах взвешивают образцы по 15–20 грамм для анализа и помещают их в колбы емкостью 250 мл. Образцы смачивают хлороформом (около 15 мл), дают постоять 1 мин и сливают (методом декантации) в фарфоровую чашку. Экстракцию повторяют до тех пор, пока хлороформ не станет

прозрачным, и оставляют фарфоровую чашку выпариваться. В это время взвешивают на аналитических весах стеклянные стаканчики и готовят стеклянную колонку. Для этого в узкую часть колонки (в носик) набивают вату и засыпают 3 г окиси алюминия. Осадок на дне фарфоровой чашки тщательно смывают гексаном. Для этого осадок счищают стеклянной палочкой со стенок чашки. Гексановый экстракт осторожно (не проливая!!!) переносят в колонку, под которой стоит взвешенный стаканчик. Экстракт проходит через колонку и по каплям капает в стаканчик.

Полный стаканчик (со всем гексановым экстрактом) отставляют для выветривания. После выветривания стаканчик с нефтепродуктами взвешивают на аналитических весах.

Расчет

Концентрацию нефтепродуктов (C_n) в почве (мг/кг) рассчитывают по формуле (2.74)

$$C_n = \frac{\Delta \cdot 1000 \cdot 1000}{m}, \quad (2.74)$$

где Δ – разница веса стаканчика до анализа и после анализа, г; m – вес образца взятого для исследования, г; $1000 \cdot 1000$ – переводные коэффициенты.

Лабораторная работа № 47. Определение содержания подвижных форм никеля и кобальта методом инверсионной вольтамперометрии в почве и донных отложениях

Метод основан на предварительном накоплении диметилглиоксимата никеля (II) и диметилглиоксимата кобальта (II) на ртутном пленочном электроде с последующим катодным восстановлением. Массовые концентрации элементов в пробе определяют при помощи добавок аттестованных смесей элементов.

Подготовка пробы заключается в минерализации и последующем анализе минерализата методом инверсионной вольтамперометрии.

Отбор и подготовка проб почв для определения металлов

Отбор и хранение проб почв проводится в соответствии с требованиями, изложенными в ГОСТ17.4.3.01–83 и ГОСТ17.4.02–84.

Чтобы отобрать пробу почвы, необходимо учитывать рельеф и климат местности, неоднородность почвенного покрова. В случае химического загрязнения отбор пробы ведется на пробных площадках с учетом расстояния и «розы ветров» от места загрязнения. Каждой площадке присваиваются номер и координаты. Для сравнения отбирают образцы почвы с незагрязнённых участков в идентичных условиях. Пробы почвы отбирают из середины почвенных горизонтов или послойно по профилю

(0–10, 10–20 и т.д.). Пробы нумеруются и регистрируются в журнале отбора проб. Также почвенная проба должна содержать этикетку, где указываются следующие данные: номер разреза (точки отбора), почвенный горизонт, глубина отбора, дата отбора.

Для контроля загрязнения почв сельскохозяйственных угодий в зависимости от характера источника загрязнения, возделываемой культуры и рельефа местности на каждые 0,5–20,0 га территории закладывают не менее 1 пробной площадки размером не менее 10 x 10 м.

Для контроля загрязнения поверхностно распределяющимися веществами – нефть, нефтепродукты, тяжелые металлы и др. – точечные пробы отбирают послойно с глубины 0–5 и 5–20 см массой не более 200 г каждая.

При отборе точечных проб и составлении объединенной пробы должна быть исключена возможность их вторичного загрязнения. Точечные пробы почвы, предназначенные для определения тяжелых металлов, отбирают инструментом, не содержащим металлов. Перед отбором точечных проб стенку прикопки или поверхность керна следует зачистить ножом из полиэтилена или полистирола, или пластмассовым шпателем. Пробы почвы для химического анализа высушивают до воздушно-сухого состояния. Воздушно-сухие пробы хранят в матерчатых мешочках, в картонных коробках или стеклянной таре.

Подготовка к анализу

1. Для определения химических веществ пробу почвы в лаборатории рассыпают на бумаге или кальке и разминают пестиком крупные комки. Затем выбирают включения – корни растений, насекомых, камни, стекло, уголь, кости животных, а также новообразования – друзы гипса, известковые журавчики и др. Почву растирают в ступке пестиком и просеивают через сито с диаметром отверстий 1 мм. Отобранные новообразования анализируют отдельно, подготавливая их к анализу так же, как пробу почвы.

2. Для определения валового содержания минеральных компонентов из просеянной пробы отбирают представительную пробу массой не более 20 г и растирают ее в ступке из агата, яшмы или плавленого корунда до пудрообразного состояния.

Ход анализа

1. Приготовление вытяжки

В коническую колбу на 100 мл вносят навеску $5 \pm 0,01$ г воздушно-сухой почвы. Цилиндром или мерной пипеткой к пробе приливают 50 мл *ацетатно-аммонийного буферного раствора с $pH=4,8$* . Пробу перемешивают и закрывают крышкой. Оставляют настаиваться при комнатной температуре в течение суток, с периодическим встряхиванием.

По истечении времени пробу фильтруют через складчатый фильтр «белая лента» (промытый ацетатным буфером) в мерную колбу на 50 мл. Фильтрат доводят до метки ацетатно-аммонийным буферным раствором.

2. Подготовка вытяжки к анализу

В зависимости от примерного содержания никеля и кобальта, для анализа дозатором отбирают от 0,05 – 0,50 мл (см³) вытяжки.

3. Определение содержания никеля и кобальта.

Для определения содержания никеля и кобальта методом инверсионной вольтамперометрии необходимо соблюдать требования, предъявляемые к работе с прибором, проводить контроль чистоты реактивов, электродов и посуды.

Перед выполнением измерений обязательно проводят отмывку электрохимических ячеек бидистиллированной водой 2–3 раза. Далее в стаканчики вносят 2 мл *аммиачно-хлоридного раствора* (фоновый раствор), 7 – 9 мл бидистиллированной воды и 0,1 мл *раствора диметилглиоксима 0,3 %*, стаканчики устанавливают в анализатор и регистрируют 2–3 вольтамперограммы фона при времени накопления 20 с в масштабе 50:1. Усредняют полученные вольтамперограммы, проверяют правильность линии остаточного тока. В стаканчики с фоновым раствором вносят 0,05 – 0,5 мл пробы. Устанавливают параметры пробы: объем минерализата – 50 мл, масса навески 5 г, объем аликвоты. Проводят регистрацию 2–3 вольтамперограмм. В каждую ячейку вносят рекомендуемую добавку аттестованной смеси определяемого элемента и проводят регистрацию еще 2–3 вольтамперограмм. Обработывают полученные результаты при помощи команды «Расчет». После проведения анализа проводят отмывку стаканчиков и электродов бидистиллированной водой.

Массовая концентрация каждого элемента вычисляется автоматически по формуле (2.75)

$$X = \frac{I_1 \cdot C_d \cdot V_d}{(I_2 - I_1) \cdot m} \cdot \frac{V_{\text{мин}}}{V_{\text{ал}}} \text{ (мг/кг) ,} \quad (2.75)$$

где X – содержание данного элемента в анализируемой пробе, мг/кг; C_d – концентрация аттестованной смеси элемента, из которой делается добавка к анализируемой пробе, мг/дм³; V_d – объем добавки аттестованной смеси элемента, см³; I_1 – величина пика элемента в анализируемой пробе, мкА; I_2 – величина пика элемента в пробе с добавкой, мкА; $V_{\text{мин}}$ – объем минерализата, см³; $V_{\text{ал}}$ – объем аликвоты, см³; m – масса пробы, г, рассчитанная по формуле (2.76)

$$m \text{ (г)} = \frac{m_{\text{пробы}}}{V_{\text{выт}}} \cdot V_{\text{мин.выт}} , \quad (2.76)$$

где $m_{\text{пробы}}$ – масса пробы, взятой для приготовления вытяжки, г; $V_{\text{выт}}$ – объем вытяжки, приготовленной из всей массы пробы, см^3 ; $V_{\text{мин.выт}}$ – объем вытяжки, взятой для минерализации, см^3 .

Реактивы

1. **Диметилглиоксим 0,3%.** 0,3 г диметилглиоксима переносят в мерную колбу на 100 мл и доводят объем до метки этиловым спиртом. Хранят в темном месте 6 месяцев.

2. **Аммиачно-хлоридный раствор с $\text{pH} = 9,5\text{--}10$ (фоновый раствор)** 21,36 г аммония хлористого растворяют в 400 мл дистиллированной воды в литровой колбе, добавляют 7–10 мл 25%-го NH_4OH и доводят до метки дистиллированной водой. Перед использованием проверяют pH индикаторной бумагой. Если pH меньше 10, то добавляют по каплям аммиак до $\text{pH} = 10$.

3. **Ацетатно-аммонийный буферный раствор с $\text{pH} = 4,8$.** В мерную литровую колбу отбирают 108 мл 98%-й уксусной кислоты, добавляют 800 мл дистиллированной воды, перемешивают. В раствор добавляют 75 мл 25%-го аммиака. Тщательно перемешивают и охлаждают. Измеряют pH раствора, добавляя при необходимости по каплям аммиак или уксусную кислоту, чтобы $\text{pH} = 4,8$. Доводят объем до метки дистиллированной водой. Срок хранения 2 недели.

Лабораторная работа № 48. Определение содержания сероводорода в почвах

Газ, температура кипения – $60,8^\circ\text{C}$, растворим в воде и в органических растворителях. Является сильным восстановителем. Водный раствор сероводорода имеет кислую реакцию и является слабой кислотой. Предельно допустимая концентрация – 0,4 мг/кг почвы.

Методика предназначена для определения в почве сероводорода в местах, где постоянно имеется загрязнение нефтепродуктами, в прибрежной почве рек и других водоемов, куда сбрасываются сточные воды, загрязненные нефтепродуктами. Определение основано на окислении сероводорода йодом, выделившимся при взаимодействии йодида калия с перманганатом калия в кислой среде. Нижний предел обнаружения 0,32 мг/кг почвы, точность измерения $\pm 25\%$, измеряемые концентрации 0,32 – 2300 мг/кг.

Оборудование и материалы

1. Аппарат для встряхивания.
2. Посуда лабораторная стеклянная.
3. Бумага фильтровальная.
4. Калия перманганат, хч, 0,01 М раствор.

5. Натрия тиосульфат, 0,005 М раствор. Растворяют 0,79 г в колбе вместимостью 1 л в дистиллированной воде.

6. Серная кислота, пл. 1,84 г/см³, разбавленная (1:3).

7. Калия иодид, хч, 10%-ный раствор.

8. Крахмал растворимый, 1%-ный раствор.

Ход анализа

Помещают 100 г почвы в коническую колбу, приливают 200 мл дистиллированной воды, колбу закрывают и встряхивают 3 мин. Затем аликвотную часть фильтруют через складчатый фильтр. Вносят в коническую колбу 100 мл фильтрата, добавляют несколько капель серной кислоты, приливают 1 мл 10%-го раствора иодида калия, взбалтывают и приливают из бюретки 0,01 М раствор перманганата калия до появления желтой окраски. Избыток йода оттитровывают 0,005 М раствором тиосульфата натрия, прибавляя к концу титрования несколько капель 1%-го раствора крахмала. Разность между объемами прилитого 0,01 М раствора перманганата калия и раствора тиосульфата натрия, израсходованного на титрование, соответствует количеству 0,01 М раствора йода, израсходованного на окисление сероводорода в 100 мл фильтрата. 1 мл 0,01 н раствора йода соответствует 0,17 мг сероводорода.

Расчет

Разность между объемами 0,01 М раствора перманганата калия и раствора тиосульфата натрия, израсходованных на титрование, равно 3 мл. Следовательно, содержание сероводорода составляет

$$0,17 \text{ мг (H}_2\text{S)} \cdot 3 = 0,51 \text{ мг (H}_2\text{S)},$$

содержащегося в 100 мл фильтрата. В 200 мл фильтрата (или в 100 г почвы) содержится 1,02 мг H₂S. Отсюда концентрация сероводорода в почве с (мг/кг) составляет (2.77):

$$C = \frac{1000 \cdot 1,02}{100} \left(\frac{\text{мг}}{\text{кг}} \right). \quad (2.77)$$

Примечание. Одновременно с анализом из образца почвы отбирают пробу и определяют влажность для пересчета результата на абсолютно сухую почву.

Лабораторная работа № 49. Определение буферности почвы

Способность почвы противостоять изменению реакции называется буферной способностью почвы. При добавлении небольших количеств кислот или щелочей в почву обладающую буферностью, их реакция мало меняется, что очень важно для произрастания растений и развития микроорганизмов. Буферность имеет большое значение для плодородия

почвы и при применении удобрений. Чем больше буферность почвы, тем выше ее плодородие.

Буферной способностью обладает твёрдая часть почв и в меньшей степени почвенный раствор. В нейтральных и слабокислых почвах буферная способность почвенных растворов зависит от наличия в них буферной системы из уголекислоты и бикарбоната кальция. При добавлении к указанной буферной системе сильной кислоты образуется нейтрально реагирующая кальциевая соль последней и слабая кислота – CO_2 в свободном состоянии, так как вместо сильной кислоты в почвенном растворе остаётся слабая кислота, благодаря чему кислотность раствора мало повышается. Свободные щёлочи, в случае их прибавления к этой буферной системе, связываются уголекислотой в уголекислые соли, труднорастворимые в воде, вследствие чего резкого подщелачивания реакции не происходит. При наличии в почвенном растворе буферной системы из уголекислоты и бикарбоната кальция рН раствора обычно колеблется в пределах от 5,3 до 8,4.

Буферность почвенных растворов может обуславливаться также наличием в них др. буферных систем – из фосфорной кислоты и её солей, органических кислот и их солей, солей алюминия и пр. или содержанием в почвенном растворе амфотерных веществ, обладающих способностью связывать как водородные, так и гидроксильные ионы (аминокислоты, гуминовые вещества и т.д.).

Методы определения буферности почв основаны на определении величины сдвига рН почвы или почвенной суспензии при добавлении кислот или щелочей.

Определение буферности почвы по Арениусу

Этот метод подходит для кислых, нейтральных и щелочных почв. Для анализа берут серию навесок почвы и приливают к ним растворы кислоты и щелочи различной концентрации. Измеряют величину рН, строят кривую буферности почвы и сравнивают с кривой чистого песка.

Реактивы

1. **0,1 н HCl** – 8,2 мл концентрированной соляной кислоты растворяют в 1 л дистиллированной воды.

2. **0,1 н NaOH** – 4 г NaOH растворяют в 1 л дистиллированной воды.

Ход анализа

1. На электронных (технических) весах отвешивают 7 навесок почвы по 10 г и переносят их в конические колбы на 100 мл.

2. К почве приливают соответствующее количество воды и кислоты, или воды и щелочи (таблица № 2.22), так чтобы общее количество раствора было 25 мл. Те же операции проводят с чистым песком.

3. Колбы плотно закрывают крышками и встряхивают в течение часа, после чего дают осесть крупным частицам и измеряют величину рН.

4. По результатам измерений строят график. По оси абсцисс откладывают количество мл, прилитой кислоты или щелочи, а по оси ординат единицы величины рН. По полученным кривым оценивают буферность почв.

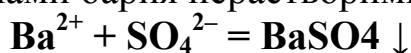
Таблица 2.22

Результаты измерений

Название поч- вы, глубина	№ колбы	0,1 н HCl, мл	0,1н NaOH, мл	H ₂ O, мл	рН
	1	12	—	13	
	2	6	—	19	
	3	3	—	22	
	4	—	—	25	
	5	—	3	22	
	6	—	6	19	
	7	—	9	13	

Лабораторная работа № 50. Определение сульфат-иона в почвенной вытяжке

Определение сульфат-иона проводится в водной вытяжке из почв (ГОСТ 26426). Определение является титриметрическим (ПНД Ф 14.1:2.107-97, МВИ 15-142а-12) и основано на способности сульфат-иона образовывать с ионами бария нерастворимый осадок BaSO₄



Титрование проводят при рН 4,0 в присутствии индикатора – ортанилового К. По достижении точки эквивалентности избыток ионов бария реагирует с индикатором с образованием комплексного соединения. При этом окраска раствора изменяется из сине-фиолетовой в зеленовато-голубую.

Сульфат-ион в водной вытяжке определяют из засоленных почв при проведении почвенного, агрохимического, мелиоративного обследований угодий, контроле за состоянием солевого режима почв, а также при других изыскательских и исследовательских работах. Данное определение может выполняться также совместно с другими определениями показателей катионно-анионного состава водной вытяжки по ГОСТ 26423 (удельной электрической проводимости, рН, плотного остатка водной вытяжки из засоленных почв, общей концентрации солей).

Диапазон определяемых значений эквивалентной концентрации иона сульфата составляет от 0,3 до 3,0 ммоль/100 г почвы. При эквивалентной концентрации иона сульфата в анализируемой вытяжке свыше

3,0 ммоль/100 г почвы определение проводят, используя разбавление вытяжки водой, с последующим учётом степени разбавления при расчёте.

Для приготовления вытяжки необходимо не менее 10 г представительной пробы воздушно-сухой почвы. Объём вытяжки для определения составляет 2,5 мл, продолжительность выполнения определения – не более 20 мин.

Выполнение работы возможно с применением тест-комплектов, готовых компонентов и принадлежностей производства ЗАО «Крисмас+». Подробная информация представлена в приложении.

Оборудование и материалы

1. Воронка полимерная.
2. Ложка мерная.
3. Пипетка полимерная на 1 мл и на 3 мл.
4. Пипетка градуированная для титрования.
5. Слянка мерная с меткой.
6. Стакан полимерный на 50 мл.
7. Шприц-дозатор с соединительной трубкой.
8. Бумага индикаторная универсальная.
9. Раствор гидроксида натрия (0,1 моль/л).
10. Раствор кислоты соляной (0,1 моль/л).
11. Раствор хлорида бария (0,02 моль/л экв.).
12. Раствор ортанилового К в этаноле.
13. Катионит КУ-2-8Чс (Н-форма).
14. Фильтры бумажные.
15. Контрольная шкала образцов окраски начала и окончания титрования.

Подготовка к анализу

Отбор и подготовку проб почвы проводите согласно ГОСТ 17.4.3.01, ГОСТ 17.4.4.02 и ГОСТ 28168. Приготовление почвенной вытяжки – согласно ГОСТ 26423. Для приготовления вытяжки необходимо не менее 10 г представительной воздушно-сухой пробы почвы.

Ход анализа

Ополосните мерную слянку несколько раз анализируемой вытяжкой. Поместите в слянку до метки «2,5 мл» пробу вытяжки и, используя мерную ложку, внесите примерно 0,2 г катионита (0,2 г катионита помещается в 1 ложке без горки).

Закройте слянку и встряхивайте содержимое в течение 3 мин.

Доведите pH пробы вытяжки по универсальной индикаторной бумаге до pH 4 растворами гидроксида натрия либо соляной кислоты с использованием полимерной пипетки (если $\text{pH} < 4$ – используйте раствор гидроксида натрия, если $\text{pH} > 4$ – используйте раствор соляной кислоты).

Добавьте в склянку с анализируемой вытяжкой раствор ортанилового К до метки «5 мл». Закройте склянку пробкой и перемешайте раствор.

Соедините шприц-дозатор с пипеткой для титрования. С помощью шприца наберите в пипетку для титрования раствор хлорида бария. Постепенно, по каплям, титруйте содержимое склянки раствором хлорида бария до появления голубой окраски, не исчезающей в течение 2–3 мин.

Примечание. Для чёткого определения точки эквивалентности при титровании окраску пробы анализируемой вытяжки рекомендуется сравнивать с контрольной шкалой образцов окраски начала и окончания титрования.

Расчет

Определите объём хлорида бария, израсходованного на титрование (V , мл):

$$V = V_0 - V_K . \quad (2.78)$$

Рассчитайте количество эквивалентов иона сульфата в почве (C_c , ммоль/100 г почвы) по формуле (2.79):

$$C_c = \frac{V \cdot C_B \cdot 500}{V_1} , \quad (2.79)$$

где V – объём раствора хлорида бария, израсходованного на титрование, мл; C_B – концентрация раствора хлорида бария, используемого для титрования, 0,02 моль/л экв.; V_1 – объём пробы, взятой для титрования, 2,5 мл; 500 – коэффициент пересчёта концентрации сульфат-иона из ммоль/мл в ммоль/100 г почвы с учётом соотношения почвы к воде 1 : 5.

Массовую долю иона сульфата в почве (C_1) в процентах вычисляют по формуле (2.80):

$$C_1 = C_c \cdot 500 , \quad (2.80)$$

где C_c – количество эквивалентов иона сульфата в почве, ммоль/100 г; 0,048 – коэффициент пересчёта из миллимоль в 100 г почвы в проценты.

При расчёте учитывайте степень разбавления пробы.

Задача 1. На титрование 2,5 мл анализируемой вытяжки израсходовали 0,5 мл хлорида бария. Рассчитали количество эквивалентов иона сульфата в почве:

$$C_c = \frac{0,5 \cdot 0,02 \cdot 500}{2,5} = 2 \text{ ммоль /100 г}$$

$$C_1 = 2 \cdot 0,048 = 0,096 \%$$

Массовая доля иона сульфата в почве составила 0,096 %.

Задача 2. Ввиду большой предполагаемой концентрации солей, почвенная вытяжка была разбавлена в 5 раз дистиллированной водой.

На титрование 2,5 мл *разбавленной* вытяжки израсходовали 0,5 мл хлорида бария. Рассчитали количество эквивалентов иона сульфата в почве:

$$C_c = \frac{0,5 \cdot 0,02 \cdot 500}{2,5} \cdot 5 = 10 \text{ ммоль /100 г}$$

где 5 – коэффициент разбавления.

$$C_1 = 10 \cdot 0,048 = 0,48 \%$$

Массовая доля иона сульфата в почве составила 0,48 %.

Лабораторная работа № 51. Определение удельной электрической проводимости (солесодержание)

Удельная электрическая проводимость измеряется с целью оценки общей концентрации солей при проведении почвенного, агрохимического и мелиоративного обследований угодий, контроле за состоянием солевого режима почв, а также при других изыскательских и исследовательских работах. Данное определение также может выполняться перед определением иона хлорида в почвенной вытяжке для предварительной оценки уровня его концентрации.

Определение удельной электрической проводимости (солесодержания) проводится в водной вытяжке из почв (ГОСТ 26423) и является кондуктометрическим (ГОСТ 26433). Исследование основано на извлечении водорастворимых солей из почвы дистиллированной водой при соотношении почвы к воде 1:5 и определении удельной электрической проводимости водной вытяжки с помощью кондуктометра DIST 4.

Принцип работы прибора и условия эксплуатации

1. Карманный кондуктометр DIST 4 представляет собой прибор, предназначенный для проведения экспрессных измерений удельной электрической проводимости растворов в диапазоне 0,1–19,99 мСм/см с автоматической температурной компенсацией (АТС) как в лабораторных, так и в полевых условиях.

Кондуктометр DIST 4 отличается простотой в эксплуатации в сочетании с высокой точностью и воспроизводимостью показаний. Данные отображаются в единицах мСм/см.

Прибор выполнен в прочном и водонепроницаемом корпусе, снабжён ЖК-дисплеем и может работать от одного комплекта батарей до 350 часов.

2. Проводимость любого раствора зависит от температуры, поэтому если измерения проводятся не при 25 °С, необходимо выполнить температурную компенсацию. Кондуктометр DIST 4 автоматически компенсирует температурные изменения благодаря наличию встроенного термосенсора.

3. Кондуктометр DIST 4 предназначен для работы в следующих условиях:

- температура окружающего воздуха от 0 до 50 °С;
- относительная влажность воздуха до 95 % при 25 °С.

Количество почвы, необходимое для приготовления вытяжки, составляет 30 г и может изменяться в зависимости от потребности в вытяжке для выполнения других анализов.

Объем вытяжки для определения составляет 50–100 мл, продолжительность выполнения определения – не более 10 мин.

Выполнение работы возможно с применением тест-комплектов, готовых компонентов и принадлежностей производства ЗАО «Крисмас+». Подробная информация представлена в приложении.

Оборудование и материалы

1. Кондуктометр DIST 4 (диапазон измерений 0,1–19,99 мСм/см).
2. Стаканчики пластиковые вместимостью 100 мл.
3. Стандартный раствор хлорида калия с концентрацией 0,1 моль/л.

Примечание. При измерениях в более широком диапазоне рекомендуется использовать другой кондуктометр, например серии ЭКС-ПЕРТ-002 (в базовую комплектацию не входит – поставляется по отдельному заказу).

Подготовка к анализу

1. Подготовка прибора к работе

Проверьте пригодность элементов питания и включите кондуктометр с помощью кнопки, расположенной на верхнем торце прибора. До проведения измерений необходимо провести калибровку прибора.

Таблица 2.23

Удельная электрическая проводимость раствора хлорида калия

Концентрация хлорида калия с (KCl), моль/л	Удельная электрическая проводимость при 25°С, мСм/см
0,0005	0,074
0,001	0,147
0,005	0,72
0,01	1,41
0,02	2,77
0,05	6,70
0,1	12,90
0,2	24,80

Для калибровки используется стандартный раствор хлорида калия с концентрацией 0,1 моль/л. Для точной калибровки используйте по два сосуда для каждого калибровочного раствора. Первый — для ополас-

кивания датчика, а второй — для калибровки. В этом случае загрязнение раствора минимально. Для снижения влияния электромагнитных полей лучше пользоваться пластиковой посудой.

Калибровку проводите в соответствии с таблицей в следующем порядке:

- 1) налейте небольшое количество калибровочного раствора хлорида калия в два чистых пластиковых стакана;
- 2) включите прибор, снимите защитный колпачок;
- 3) сполосните датчик калибровочным раствором и затем погрузите его во второй стакан с калибровочным раствором; осторожно перемешайте, постукивая датчиком о дно стакана для удаления пузырьков воздуха. Подождите некоторое время, пока не установится термическое равновесие;
- 4) с помощью калибровочного винта на задней панели прибора и отвёртки подведите показания прибора до значения 12,90.

На этом калибровка завершена.

2. Отбор и подготовка проб почвы, приготовление почвенной вытяжки

Отбор и подготовку проб почвы проводите согласно ГОСТ 17.4.3.01, ГОСТ 17.4.4.02 и ГОСТ 28168. Приготовление почвенной вытяжки — согласно ГОСТ 26423. Для приготовления вытяжки необходимо не менее 30 г представительной пробы почвы.

Ход анализа

Пробу почвы массой 30 г, взвешенную с погрешностью не более 0,1 г, помещают в коническую колбу, приливают цилиндром 150 мл дистиллированной воды. Почву с водой перемешивают с помощью пропеллерной мешалки (на взбалтывателе или ротаторе) в течение 3 мин. Суспензию наливают в станакчик и оставляют на 5 мин для отстаивания.

После 5-минутного отстаивания в суспензию погружают датчик кондуктометра и определяют удельную электрическую проводимость. После каждого определения датчик тщательно промывают дистиллированной водой.

Расчет

Удельную электрическую проводимость анализируемой вытяжки (X), мСм/см, вычисляйте по формуле (2.81):

$$X = a \cdot C \cdot k \quad (2.81)$$

где a — измеренная электрическая проводимость вытяжки, мСм/см; C — константа кондуктометрической ячейки (датчика), для DIST 4 принимается равной 1, см⁻¹; k — коэффициент температурной поправки для приведения электрической проводимости, измеренной при данной темпера-

туре к 25 °С. Для кондуктометра DIST 4, имеющего температурный компенсатор, данная величина принимается равной 1.

Примечание. 1. При использовании другого кондуктометра необходимо определить константу кондуктометрической ячейки (датчика). Для этого датчик кондуктометра погружают в раствор хлористого калия концентрации 0,01 моль/л и определяют электрическую проводимость. Константу датчика вычисляют по формуле (2.82):

$$C = \frac{1,41}{a \cdot k}, \quad (2.78)$$

где 1,41 – удельная электрическая проводимость раствора хлористого калия концентрации 0,01 моль/л при 25 °С, мСм/см; a – измеренная электрическая проводимость раствора хлористого калия концентрации 0,01 моль/л при 25 °С, мСм/см; k – коэффициент температурной поправки для приведения электрической проводимости, измеренной при данной температуре, к 25 °С.

При отсутствии температурного компенсатора определяют температуру хлористого калия с помощью лабораторного термометра и находят значение коэффициента по таблице 2.24.

Таблица 2.24

Значения коэффициента температурной поправки

°С	k	°С	k
15	1,254	23	1,044
16	1,224	24	1,021
17	1,196	25	1,000
18	1,168	26	0,979
19	1,142	27	0,960
20	1,118	28	0,941
21	1,092	29	0,923
22	1,067	30	0,906

Рекомендуемая литература

Алексеев Ю.В. Тяжелые металлы в почвах и растениях / Ю.В. Алексеев. – Л. : Агропромиздат, 1987. – 140 с.

Аринушкина Е.В. Руководство по химическому составу почв / Е.В. Аринушкина. – М. : Химия, 1992. – 425 с.

Афанасьев Ю.А. Мониторинг и методы контроля окружающей среды: учеб. пособие: в 2 ч. I Общая / Ю.А. Афанасьев, С.А. Фомин. – М. : МНЭПУ, 1998. – 208 с.

Биологическая роль микроэлементов / под ред. В.В. Ковальского. – М. : Наука, 1983. – 237 с.

Виноградов А.П. Среднее содержание химических элементов в главных типах изверженных пород земной коры / А.П. Виноградов // Геохимия. – 1952. – № 7. – С. 555–571.

Воробьева Л.А. Химический анализ почв / Л.А. Воробьева. – М. : Изд-во Моск. ун-та, 1998. – 324 с.

Глинка Н.Л. Общая химия / Н.Л. Глинка. – Л. : Химия, 1983. – 702 с.

ГОСТ 17.2.4.02 – 81 Охрана природы. Атмосфера. Общие требования к методам определения загрязняющих веществ.

ГОСТ 17.2.3.01 – 86 (СТ СЭВ 1925 - 79) Охрана природы. Атмосфера. Правила контроля качества воздуха населенных пунктов.

ГОСТ 17.4.1.02 – 83. Охрана природы. Почвы. Классификация химических веществ для контроля загрязнения. – М. : Изд-во стандартов, 1984. – 8 с.

ГОСТ 17.4.3.01 – 83. Охрана природы. Почвы. Общие требования к отбору проб. – М. : Изд-во стандартов, 1984. – 4 с.

ГОСТ 26715 – 85. Удобрения органические. Методы определения общего азота. – М. : Изд-во стандартов, 1986. – 8 с.

ГОСТ 26715 – 85. Удобрения органические. Методы определения общего фосфора. – М. : Изд-во стандартов, 1986. – 5 с.

Государственный доклад «О состоянии и использовании водных ресурсов Российской Федерации в 2008 году» – М. : НИА - Природа, 2009. – 457 с.

Данилов-Данильян В.И. Глобальная проблема дефицита пресной воды / В.И. Данилов-Данильян // Век глобализации. 2008. № 1. С. 45–56.

Дмитриев М.Т. Санитарно-химический анализ загрязняющих веществ в окружающей среде / М.Т. Дмитриев, Н.И. Казнина, И.А. Пинигина. – М. : Химия, 1989. – 368 с.

Инверсионная вольтамперметрия. Пособие по проведению анализов методом инверсионной вольтамперметрии на анализаторе ТА-4, ООО «НПП» Томьаналит» – Томск, 2008. – 42 с.

Каверина Н.В. Практикум по геохимии окружающей среды : учеб. пособие / Н.В. Каверина. – Воронеж : Научная книга, 2018. – 90 с.

Ковда В.А. Биогеохимия почвенного покрова / В.А. Ковда. – М. : Наука, 1985. – 262 с.

Лурье Ю.Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод. – М. : Химия, 1974. – 374 с.

Методические рекомендации по проведению полевых и лабораторных исследований почв и растений при контроле загрязнения окружающей среды металлами / под ред. Ю.А. Израэля. – М. : Гидрометеопиздат, 1981. – 109 с.

Мониторинг и методы контроля окружающей среды : учеб. пособие. Ч. 2. Специальная / под ред. Ю.А. Афанасьева, С.А. Фомина. – М. : МНЭПУ, 2001. – 336 с.

Муравьев А.Г. Оценка экологического состояния почвы / А.Г. Муравьев, Б.Б. Каррыев, А.Р. Ляндзберг. – СПб. : Крисмас + , 2015. – 208 с.

Муравьев А.Г. Руководство по определению показателей качества воды полевыми методами / А.Г. Муравьев. – СПб. : Крисмас+, 1999. – 231 с.

Муравьев С.И. Справочник по контролю загрязняющих веществ в воздухе / С.И. Муравьев, Н.И. Казнина, Е.К. Прохорова. – М. : Химия, 1988. – 320 с.

Никаноров А.М. Гидрохимия / А.М. Никаноров. – СПб. : Гидрометеиздат, 2001. – 447 с.

Обобщенные перечни предельно-допустимых концентраций вредных веществ в почве. – М. : Госкомсанэпиднадзор России, 1988. – 4 с.

Основы безопасности жизнедеятельности. Практикум по обнаружению и оценке фактов радиационной и химической опасности : метод. пособие / С.П. Данченко, А.Г. Муравьев. – СПб. : «Крисмас+», 2018. – 144 с.

Петрова Н.М. Индикаторные трубки и газоопределители / Н.М. Петрова, А.Г. Муравьев, А.А. Лавриненко и др. – СПб. : Крисмас +, 2005. – 176 с.

ПНД Ф 14.1:2:4.166–2000 Количественный химический анализ вод. Методика выполнения измерений массовой концентрации алюминия в пробах природных, очищенных сточных и питьевых вод фотометрическим методом с алюминоном. – М. : ФГУ «ФЦАМ МПР России», 2004. – 20 с.

Практикум по агрохимии / под ред. В.Г. Минеева. – М. : Изд-во МГУ, 1989. – 304 с.

Прожорина Т.И. Практикум по курсу «Экологическая гидрохимия» : в 2 ч. / Т.И. Прожорина. – Воронеж : Изд-во Воронеж. ун-та, – Ч. 1. – 2006. – 28 с.

Прожорина Т.И. Практикум по курсу «Экологическая гидрохимия» : в 2 ч. / Т.И. Прожорина. – Воронеж : Изд-во Воронеж. ун-та, – Ч. 2. – 2007. – 28 с.

Прожорина Т.И. Практикум по курсу «Химический анализ почв» : в 2 ч. / Т.И. Прожорина, Е.Д. Затулей. – Воронеж : Изд-во Воронеж. ун-та. – Ч. 1. – 2008. – 32 с.

Прожорина Т.И. Практикум по курсу «Химический анализ почв» : в 2 ч. / Т.И. Прожорина, Е.Д. Затулей. – Воронеж : Изд-во Воронеж. ун-та, Ч. 2. – 2009. – 32 с.

РД 52.04.186-89. Руководство по контролю загрязнения атмосферы. М., 1991.

РД 39-0147098-015-90. Инструкция по контролю за состоянием почв на объектах предприятий Миннефтегазпрома. – М. : Миннефтегазпром, 1989. – 28 с.

Резников А.А. Методы анализа природных вод / А. А. Резников, Е.П. Мумековская, И.Ю. Соколов. – М. : Недра, 1970. – 488 с.

Руководство к практ. занятиям в лаборатории «Экология и охрана окружающей среды» : учеб. пособие для вузов / под ред. А.Г. Муравьева. – СПб. : «Крисмас+», 2014. – 108 с.

Руководство по анализу воды. Питьевая и природная вода, почвенные вытяжки / под ред. к.х.н. А.Г. Муравьева. – Изд. 4-е, перераб. – СПб. : «Крисмас+», 2018. – 360 с.

Руководство по санитарно-пищевому анализу с применением тестовых средств / под ред. к.х.н. А.Г. Муравьева. – Изд. 3-е, перераб. – СПб. : «Крисмас+», 2018. – 144 с.

Строганов Н.С. Практическое руководство по гидрохимии / Н.С. Строганов, Н.С. Бузинова. – М. : Изд-во Моск. ун-та, 1980. – 257 с.

Федорова А.И. Практикум по экологии и охране окружающей среды / А.И. Федорова, А.Н. Никольская. – М. : ВЛАДОС, 2003. – 288 с.

Физико-химические методы анализа. Практическое руководство: учеб. пособие для вузов / В.Б. Алесковский и др. – Л. : Химия, 1988 – 376 с.

Физико-химические методы исследования почв / под ред. Н.Г. Зырина, Д.С. Орлова. – М. : Изд-во Моск. гос. ун-та, 1980. – 381 с.

Харитонов Г.Б. Приоритеты модернизации управления водохозяйственным комплексом России // Экономический вестник Ростовского государственного университета. – 2008. – Том 6. № 3. Ч. 2. С. 184–188.

Химический анализ почв / под ред. О.Г. Растворова, Д.П. Андреева. – СПб. : Изд-во СПб ун-та, 1995. – 295 с.

Химический анализ почвы. Руководство по применению почвенных лабораторий и тест-комплектов / под ред. к.х.н. А.Г. Муравьева. – Изд. 3-е, перераб. и дополн. – СПб. : Крисмас+, 2015. – 136 с.

Цыцарин Г.В. Гидрохимический практикум / Г.В. Цыцарин, Н.А. Шмидеберг. – М. : Изд-во Моск. ун-та, 1972. – 128 с.

Чарыков А.К. Математическая обработка результатов химического анализа / А.К. Чарыков – Л. : Химия, 1984.

Эколого-аналитические методы исследования окружающей среды : учеб. пособие / Т.И. Прожорина, Н.В. Каверина, А.Н. Никольская и др. - Воронеж : Истоки, 2010. – 304 с.

3. МЕТОДЫ БИОТЕСТИРОВАНИЯ И БИОИНДИКАЦИИ

Биологические методы анализа – методы качественного обнаружения и количественного определения неорганических и органических соединений, основанные на применении живых организмов в качестве аналитических индикаторов [Юрин В.М., 2002].

В выявлении антропогенного загрязнения среды с химико-аналитическими методами находят применение приёмы, основанные на оценке состояния отдельных особей, подвергающихся воздействию загрязненной среды, а также их органов, тканей и клеток. Их применение вызвано технической усложненностью и ограниченностью информации, которую могут предоставить химические методы.

Кроме того, гидрохимические и химико-аналитические методы могут оказаться неэффективными из-за недостаточно высокой чувствительности. Живые организмы способны воспринимать более низкие концентрации веществ, чем любой аналитический датчик, в связи с чем биота может быть подвержена токсическим воздействиям, не регистрируемым техническими средствами [Кулинский В.И., 1999].

Живые организмы всегда обитают в среде строго определенного химического состава. Если нарушить этот состав, например, исключив из питательной среды определяемый компонент или введя его дополнительно, организм через некоторое время подаст соответствующий сигнал. С помощью биологических методов анализа устанавливаются связи характера и (или) интенсивности ответного сигнала с количеством определяемого компонента [Попова Т.Н., 2002].

Биоиндикация предусматривает выявления уже состоявшегося или накапливающегося загрязнения по индикаторным видам живых организмов и экологическим характеристикам сообществ организма. Пристальное внимание в настоящее время уделяется приемам биотестирования, то есть использования в контролируемых условиях биологических объектов в качестве средства выявления суммарной токсичности среды. Биотестирование представляет собой методический приём, основанный на оценке действия фактора, в том числе и токсического, на организм, его отдельную функцию или систему органов и тканей [Исидоров В.А., 1999].

В качестве индикаторов применяются микроорганизмы (бактерии, дрожжи, плесневые грибы), водоросли и высшие растения, водные беспозвоночные и позвоночные животные (простейшие, ракообразные, моллюски, личинки комаров, олигохеты, пиявки, рыбы и др.), насекомые, черви, а также ткани, различные органы и системы (нервная, кровеносная, половая и др.) теплокровных [Исидоров В.А., 1999].

Кроме выбора биотеста и тест-организма существенную роль играет выбор тест-реакции – того параметра организма, который измеряется при тестировании. Наиболее информативны интегральные параметры, характеризующие общее состояние живой системы соответствующего уровня. Для отдельных организмов к интегральным параметрам обычно относят характеристики выживаемости, роста, плодовитости, тогда как физиологические, биохимические, гистологические и прочие параметры относят к частным [Исидоров В.А., 1999]. Но ни один из тест-объектов не может служить универсальным индикатором, в равной степени чувствительным ко всем экологическим факторам, из-за видовой избирательности действия потенциальных токсикантов.

С введением каждого дополнительного объекта надежность схемы испытаний повышается. Однако бесконечное расширение ассортимента обязательных объектов невозможно. В связи с этим для каждого предлагаемого метода биотестирования должно быть определено строгое целевое назначение, обозначена область применения и очевидные преимущества перед рекомендованными ранее [Колесников С.И. и др., 2006]. Питательная среда может быть естественной, искусственной или синтетической.

Ответный сигнал индикаторного организма на нарушение химического состава среды может быть самым разнообразным: изменение характера поведения, интенсивности роста, скорости метаморфоза, состава крови, биоэлектрической активности органов и тканей, нарушение функций органов пищеварения, дыхания, размножения, патологоанатомические изменения организма, летальный исход.

Например, при применении микроорганизмов в качестве аналитических индикаторов исследуемый компонент можно определять по характеру и интенсивности пигментации и люминесценции (для фотобактерий), динамике накопления биомассы, диаметру зоны угнетения роста микроорганизмов, изменению электропроводности растворов, рН, по качественному составу и интенсивности газообмена и др. Все изменения оценивают визуально или измеряют с помощью приборов, например, спектрофотометров, потенциометров, аналитических весов. Для обработки сигналов индикаторного организма применяют вычислительную технику.

Диапазон определяемых содержаний веществ, как и предел обнаружения, зависит от ряда факторов: направленности и продолжительности воздействия химических соединений на организм, температуры и рН среды, уровня организации биологического объекта, его индивидуальных, возрастных, половых особенностей и др. Предел обнаружения, как правило, понижается с увеличением продолжительности наблюдения за индикаторным организмом и повышением температуры (до температу-

ры свертывания белка). Эксперимент может продолжаться до 40–50 суток. Предел обнаружения $C_{\min}$ можно оценить по уравнению (3.1):

$$C_{\min}^n \cdot \tau = K, \quad (3.1)$$

где τ – интервал времени с момента начала воздействия до появления аналитического сигнала; n и K – эмпирические константы, зависящие от биологической активности организма и определяемого вещества в растворе.

Значения n и K неодинаковы для разных видов организмов и могут характеризовать избирательность биологического метода анализа. Иногда, даже при учете ряда переменных факторов, влияющих на предел обнаружения, ответная реакция организма на одно и то же количество определяемого вещества не воспроизводится. Эти отклонения трудно объяснить и описываются законами математической статистики.

Как правило, биологические методы анализа отличаются высокой чувствительностью и избирательностью определения биологически активных веществ, например, предел обнаружения тиамина с помощью бактерий *Streptococcus salivarius* составляет $1 \cdot 10^{-5}$ мкг/мл, хлорофоса с помощью некоторых ветвистоусых рачков – $1 \cdot 10^{-4}$ мкг/мл. Кроме того, в ходе анализа можно получить информацию о воздействии определяемых веществ на жизнедеятельность организмов.

Биологические методы анализа применяют для определения ядов различного назначения (в том числе средств защиты растений), витаминов, аминокислот, большого числа продуктов органического и неорганического синтеза, в частности при контроле загрязнений окружающей природной среды, оценке эффективности работы промышленных очистных сооружений.

Для того чтобы быть пригодными для решения комплекса современных задач, методы биотестирования, используемые для оценки среды, должны соответствовать следующим требованиям: быть применимыми для оценки любых экологических изменений среды обитания живых организмов; характеризовать наиболее общие и важные параметры жизнедеятельности биоты; быть достаточно чувствительными для выявления даже начальных обратимых экологических изменений; быть адекватными для любого вида живых существ и любого типа воздействия; быть удобными не только для лабораторного моделирования, но также и для исследований в природе; быть достаточно простыми и не слишком дорогостоящими для широкого использования.

Одним из наиболее важных требований при оценке состояния среды является чувствительность применяемых методов. Потребность в таких методах особенно возрастает в настоящее время, когда в силу повышенного внимания к проблемам охраны природы и в связи с развити-

ем природоохранных мероприятий становится необходимым оценивать не только и не столько существенные, как правило, уже необратимые изменения в среде, но и первоначальные незначительные отклонения, когда ещё возможно вернуть систему в прежнее нормальное состояние.

Другое важное требование – универсальность как в отношении физического, химического или биологического оцениваемого воздействия, так и типа экосистем и вида живых существ, по отношению к которым такая оценка проводится. Причём, это необходимо как в отношении отдельных агентов, так и кумулятивного воздействия любого их сочетания (включая весь комплекс как антропогенных, так и естественных факторов) [Мелехова О.П., 1996].

Метод биотестирования не отменяет инструментальные исследования, а дополняет их, позволяя проводить экологический мониторинг наиболее полно и достоверно, показывая реальное состояние окружающей среды как в данный момент времени, так и в динамике.

При проведении биологического тестирования на уровне организмов выбор биологических переменных предполагает, что отклик должен коррелировать с изменениями на экосистемном уровне. Выявить такую зависимость на практике достаточно сложно. Однако такие показатели организмов, как рост особей, их продуктивность, выживаемость, состояние органов дыхания, состава крови и плазмы удастся использовать для биологического тестирования состояния среды.

При мониторинге природных и сточных вод предприятий оказались удобными фитопланктон, дафнии. Показателем при этом служит выживаемость гидробионта. Для оценки экологического состояния водоемов применяют так называемые рыбные пруды, в которых тест-объектами служат караси и аквариумные рыбы гуппи.

Многие организмы способны аккумулировать химические загрязнители выше их естественного содержания в воде и почве без быстро проявляющихся нарушений. Такая способность тест-организмов оказалась полезной в качестве индикаторного признака загрязнения окружающей среды и используется для аккумулятивной биоиндикации.

Этот прием биотестирования применяют при исследовании процессов миграции токсичных веществ в окружающей среде. В качестве тест-организмов выбирают те из них, которые имеют высокий коэффициент биологического накопления (КН) токсикантов из окружающей среды. Фитопланктон, например, имеет значение КН по тяжелым металлам от 10^2 до 10^4 , для полихлорированных бифенилов величина КН достигает $1,7 \cdot 10^5$.

Величина КН зависит от природных факторов. Бензапирен в гидробиоте Берингова моря накапливается с КН, равным $2,9 \cdot 10^3$, а в теплых водах Средиземного моря накопление возрастает в пять раз. Знание КН

оказалось удобным для глобального и регионального мониторинга окружающей среды.

Например, для оценки загрязнения природных вод кадмием можно использовать результаты анализа его содержания в водорослях. Чтобы оценить загрязнение Мирового океана полихлорированными бифенилами, рационально определить их содержание в жировых тканях морских млекопитающих. КН никеля в водах Средиземного моря наиболее высок в устрицах. Содержание ртути в почвах региона удобно отследить по накоплению токсиканта в капусте, галогенидов – по иглам сосны, лишайникам. Наконец, лучший индикатор загрязнения автострад свинцом и кадмием – подорожник, растущий вдоль них.

Уровень физиологической активности лабораторных культур и выборок тест-объектов периодически контролируются по эффекту на них эталонного (стандартного) токсиканта, концентрация 50%-й гибели или изменение какого-либо параметра жизнедеятельности организма для этого токсиканта за 24–96 ч. В качестве эталонного токсиканта рекомендуется бихромат калия.

Готовят маточный раствор двухромоксида калия концентрацией 3 мг/л. Далее методом разбавления – серию растворов с концентрациями 0,12; 0,25; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 мг/л. Исследование проводят в течение 48 ч в трех повторностях. По результатам опыта рассчитывают среднюю концентрацию, вызывающую уменьшение численности клеток на 50 % за 48 ч. Если полученное значение находится в интервале 1,3–2,5 мг/л, то культура тест-организмов может быть использована для экспериментов.

Если реакция тест-объекта не соответствует определенному диапазону полуметальных концентраций, то с данным тест-объектом эксперименты не проводят, выясняют причину отклонения (условия культивирования, состав культуральной среды и проч.).

3.1. Биотестирование тяжелых металлов в различных компонентах биосферы

Тяжелые металлы по механизмам биологического действия делятся на две большие группы. Эссенциальные входят в состав ферментов и кофакторов, которые участвуют в активации ферментативных реакций. Например, марганец входит в состав ферментов, участвующих в образовании и восстановлении хрящевой ткани, репликации ДНК и многих других биохимических процессах. Цинк входит в состав карбоангидразы, которая участвует в тканевом обмене CO_2 . Медь входит в состав белков сыворотки крови, а у беспозвоночных – в дыхательный пигмент, т.е. у них в прямом смысле голубая кровь. Хром участвует в углеводном и ли-

пидном обмене: при сахарном диабете его содержание в тканях человека понижено.

Однако потребность в этих тяжелых металлах очень невелика, а живые организмы склонны к их биоаккумуляции и экологической магнификации. Повышенное содержание эссенциальных тяжелых металлов приводит к физиологическим, нейротоксическим, терратогенным и другим нарушениям [Исидоров В.А., 1999].

Неэссенциальные металлы являются абсолютно чужеродными для живых организмов и способных оказывать негативное воздействие в незначительных концентрациях. К ним относятся свинец, кадмий, ртуть и сурьма, а также металлоиды селен и мышьяк.

Все тяжелые металлы достаточно реакционноспособны и способны образовывать комплексные соединения с биологическими молекулами. Этим объясняется физиологическая роль эссенциальных металлов, с другой стороны, может приводить к заменам в простетических группах ферментов. Например, ионы ртути, свинца и кадмия способны образовывать прочные комплексы с серосодержащими аминокислотами и ингибировать сотни различных ферментов.

Кроме того, неэссенциальные металлы (ртуть, свинец) способны вытеснять эссенциальные из активных центров ферментов, что также приводит к их инактивации за счет изменения конформации белковой молекулы.

Токсический эффект тяжелых металлов связан также с нарушением синтеза различных форм цитохрома Р-450, который отвечает за окисление ксенобиотиков и гормонов и других биологически активных веществ. Нарушение функционирования цитохромов Р-450 приводит не только к накоплению ксенобиотиков, но и различным физиологическим нарушениям. А повреждение пероксидаз, супероксиддисмутаза и деоксигеназ активизирует окислительные процессы в организме, которые могут повреждать биополимеры.

Ртуть

Среднее содержание ртути в литосфере (ее кларк) составляет 83 мкг/кг. Она образует самостоятельные минералы, такие как киноварь и метациннабарит (HgS), ливингстонит (HgSb_4S_7) и другие. Кроме того, ртуть входит в состав сфалерита (ZnS), самородного золота и серебра. Ртуть из труднорастворимых минералов может вымываться водами, содержащими гуминовые и фульвокислоты. Таким путем в водные объекты поступает до 1300 т ртути в год. В атмосферу этот металл поступает в виде паров при дегазации земных недр, а также в составе вулканического и морского аэрозоля. Этим путем поступает около 3000 т в год.

Однако антропогенные источники поставляют значительно больше, чем природные. Ежегодное производство металлической ртути со-

ставляет 8–10 тыс. т, из которого примерно половина поступает в воды, воздух и почвы. Кроме того, ртуть поступает в атмосферу при выплавке цветных металлов и сжигании угля.

Ртуть и ее соединения широко применяются в различных отраслях, медицине, в быту. Из разбитых градусников ежегодно в окружающую среду поступает 60 т ртути. В медицине используют ртутьсодержащие дезинфицирующие растворы, а лабораториях – реактивы и оборудование. Этим путем ртуть поступает в сточные воды.

В 40-х гг. XX в в сельском хозяйстве применяли ртутьсодержащие пестициды, что привело к значительному сокращению зерноядных и хищных птиц в странах Европы. Сейчас значительная часть ртути поступает на поверхность почвы с атмосферными выпадениями [Руководство..., 1989].

В водных экосистемах ртуть присутствует в составе различных комплексов, соотношение которых зависит от конкретных условий среды. Значительная доля ртути образует комплексы с гуминовыми и фульвокислотами, особенно с низкомолекулярными. Кроме того, она способна активно сорбироваться на глинистых и взвешенных частицах, с которыми она оседает на дно, накапливаясь в донных осадках.

С участием микроорганизмов в воде происходит метилирование ртути с образование моно- и диметилртути. Первая хорошо растворима как в воде, так и в липидах, поэтому легко проникает через кожу и пищеварительную систему. Диметилртуть гидрофобна и липофильна, способна к выраженной экологической магнификации, при это коэффициент биоаккумуляции составляет 105.

Из биологических тканей ртуть выводится очень медленно, связываясь с низкомолекулярными белками.

Накопление метилированной ртути в гидробионтах стало причиной болезни Миномата, которая привела к гибели более 200 человек в Японии в 1953 г., еще несколько тысяч пострадало. Метилртуть приводит к тяжелым поражениям ЦНС и проникает через плацентарный барьер, вызывая нарушения развития или гибель зародыша.

Свинец

Содержание свинца в земной коре 16 мг/кг. Он входит в состав 80 различных минералов. Всегда содержится в рудах урана и тория, так как образуется в процессе распада. В природных условиях часто образует крупные залежи свинцово-цинковых или полиметаллических руд. Природное поступление свинца в окружающую среду незначительно и основное количество его поступает в результате антропогенной деятельности.

Основным источником свинца являются предприятия металлургической промышленности, которые либо непосредственно производят

свинец и его соединения, либо осуществляют очистку продукции от примесей свинца.

В топливно-энергетическом комплексе загрязнение окружающей среды свинцом обусловлено производством этилированных бензинов и сжиганием органического топлива. В настоящее время применение этилированных бензинов запрещено, но и в неэтилированных может содержаться свинец в концентрации до 0,01 г/л.

В химической промышленности свинец используют при производстве пигментов (свинцовый сурик) защитных покрытий, специальных свинцовых стекол и смазок, а также при изготовлении хрустальной посуды.

Все виды произведенной продукции со временем попадают на полигоны твердых бытовых отходов (ТБО). Основными источниками свинца являются отработанные свинцовые батареи, провода, кабели, хрусталь, глазированная керамика, жестяные консервные банки (свинец используется в пропое) и т.д.

По экспертным оценкам на свалках, транспортных площадках и других местах по всей территории России в настоящее время находится до 1 млн т свинца в отработанных аккумуляторах. При существующем положении с их переработкой эта величина возрастает на 50–60 тыс. т ежегодно.

В почву свинец попадает, оседая из атмосферы с осадками. Вертикальная миграция в тяжелых по гранулометрическому составу почвах происходит очень медленно, поэтому значительные концентрации накапливаются в верхних горизонтах. При этом закрепление свинца почвенными частицами препятствует загрязнению грунтовых вод и сельскохозяйственных растений. Песчаные почвы слабее связывают свинец, поэтому миграция в растения происходит более интенсивно [Исидоров В.А, 1999].

Накопление свинца в растениях происходит неравномерно. Например, салат и сельдерей накапливают свинец в листьях, а морковь и другие корнеплоды в подземных частях. Наиболее активно накапливает свинец картофель. Растительные продукты в целом содержат больше свинца, чем животные.

У позвоночных свинец накапливается в костной ткани, головном мозге и печени. У беспозвоночных в хитиновом покрове.

Поступление свинца в организм человека способно вызывать острые и хронические отравления. Чаще наблюдаются хронические отравления в регионах расположения металлургических производств. Симптомами является слабость, быстрая утомляемость, головная боль, бледность, черная свинцовая кайма на деснах возле зубов. В настоящее время отмечают связь между свинцовым загрязнением до рождения и в

детстве и снижением уровня интеллекта и способности к обучению. В России постепенно увеличивается численность контингентов, имеющих профессиональный контакт со свинцом.

Кадмий

Кадмий относится к редким и рассеянным элементам: среднее содержание его в земной коре 0,1 мг/кг. Он не образует самостоятельных рудных месторождений, а является спутником цветных металлов. Основными природными источниками кадмия для атмосферы служат процессы выветривания и вулканизма. В атмосферу естественным путем ежегодно поступает от 100 до 500 т. В гидросферу кадмий попадает в результате эрозии и выщелачивания минералов (примерно в 15 000 т в год).

В промышленности кадмий используют в качестве противокоррозионного покрытия, стабилизатора поливинилхлорида, пигмента для пластмасс и стекла, а также электродного материала в никель-кадмиевых аккумуляторах и батареях. В химической промышленности соединения кадмия применяются в качестве катализаторов.

Основными антропогенными источниками кадмиевого загрязнения служат предприятия по добыче цинка и гальваническое производство. Значительные количества кадмия поступают в окружающую среду с городскими отходами, содержащими отслужившие срок батареи и пластмассы: сжигание коммунальных отходов приводит к выделению содержавшегося в пластмассах кадмия в атмосферу.

В сельскохозяйственные почвы кадмий поступает вместе с фосфатными удобрениями, которые содержат примеси соединений кадмия от 25 до 260 г на тонну. Кроме того, он оседает из атмосферы с сухими и влажными выпадениями и накапливается в верхнем пахотном слое. Подвижность кадмия зависит от свойств почв: в легких песчаных кадмий мигрирует по профилю значительно быстрее, чем в высокогумусных, где он сорбируется тонкодисперсными частицами.

Из почв кадмий поступает в наземные пищевые цепи, причем есть сведения о его способности к экологической магнификации.

В водных экосистемах накопление кадмия гидробионтами зависит от их способности сорбировать его из воды, а не от положения в цепи питания. Таким образом, в водных экосистемах свидетельства биомагнификации не были получены.

Хроническое воздействие малых концентраций кадмия (10 мкг/л) ингибирует системы ионного транспорта у позвоночных, что приводит к резкому снижению концентрации ионов Са в плазме [Статистическая ..., 1989].

Примером кадмиевого отравления может служить болезнь итаи-итаи, которая приводит к деформациям скелета и многочисленным переломам. Причиной стало загрязнение оросительных вод рисовых полей

стоками промышленного предприятия, содержащими незначительную концентрацию кадмия. Первые случаи заболевания были зарегистрированы в Японии в 1947 г., а к 1965 г. от нее погибло 100 человек и еще большее число людей стали инвалидами.

Лабораторная работа № 52. Биотестирование токсичности эссенциальных и неэссенциальных тяжелых металлов с помощью проростков одно- и двудольных растений

Различные тяжелые металлы способны оказывать разностороннее влияние на семена различных растений и их прорастание. В зависимости от химических свойств солей тяжелых металлов и их концентрации степень воздействия может варьировать от стимулирования роста до полной гибели. Воздействие может происходить на разных стадиях развития. Если соль остро токсична для данного вида, то может произойти гибель зародыша семени и прорастания не произойдет. Для оценки этого явления сравнивают число проросших семян в опыте и контроле. Если данная концентрация соли не вызывает гибель зародыша и прорастание происходит, то скорость деления клеток в проростке может значительно изменяться. Поэтому проводят сравнение длины корня и стебля проростка в исследуемой концентрации и контроле.

Опыт может проводиться в двух вариантах:

1. Когда семена тест-растений помещают в чашку Петри с фильтровальной бумагой, на которую вносят растворы солей тяжелых металлов. Результаты получают через 7 – 10 дней.

2. Семена тест-растений высаживают в стаканчики с прокаленным песком, который увлажняется растворами исследуемых солей тяжелых металлов. Результаты получают через 14 дней.

Достоверность результатов наблюдений достигается использованием большого числа повторений (не менее 5) в каждом варианте, а также при статистической обработке полученных данных.

Оборудование и материалы

1. Чашки Петри.
2. Фильтровальная бумага.
3. Пипетки мерные на 10 мл.
4. Карандаши по стеклу.
5. Небольшие пузырьки (пенициллинки) для разведения солей.
6. Пластиковые стаканчики.
7. Прокаленный песок.

8. Растворы солей тяжелых металлов: CuSO_4 (ПДК 0,004 мг/л); $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (ПДК 0,03 мг/л); $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (ПДК 0,0005 мг/л); KMgO_4 (ПДК 0,01 мг/л).

9. Семена тест-культур должны принадлежать к одному виду и сорту, соответствовать 1 классу, быть одного года урожая (предыдущего или непосредственно года проведения исследования), не обработанными протравителями.

Предназначенные для проращивания семена предварительно прогревают при температуре 30–40 °С в течение 5–7 суток.

Ход анализа

Из исходных растворов солей приготавливают рабочие растворы путем последовательного разведения. Для работы необходимо приготовить растворы соответствующие 1ПДК, 10 ПДК и 0,1 ПДК. Для тестирования каждой концентрации готовят не менее 5 чашек Петри или 5 стаканов с песком.

Первый вариант теста

В чашки Петри выкладывают по 2 кружка фильтровальной бумаги. На подготовленную чашку аккуратно с равными промежутками выкладывают семена. На чашке подписывают номер группы, исследуемое вещество, концентрацию. Затем на каждую чашку аккуратно наносят по 10 мл исследуемых веществ. Накрывают крышкой и помещают в термостат на проращивание при температуре 200 °С. Помимо опытных чашек закладываются контрольные, в которые вместо растворов солей вносят по 10 мл дистиллированной воды.

Через 7–10 дней чашки Петри достают из термостата, проводят необходимые наблюдения и исследования. Далее проводятся следующие наблюдения и замеры, а данные записывают в соответствующие таблицы.

1. Количество взошедших, нормально развитых побегов. Взошедшим считается побег длиной 5 и более мм. Нормальные побеги не должны иметь видимых морфологических изменений.

2. Измеряют длину образовавшихся проростков, отмечают имеющиеся морфологические изменения (увядание, почернение и т.п.).

Результаты наблюдений записывают в табл. 3.1.

Определяют удельную токсичность в отношении прорастания семян и в отношении нарушения роста проростков. Анализируют наличие морфологических отклонений у проростков. Делают выводы о степени токсичности различных концентраций солей тяжелых металлов на отдельные стороны жизнедеятельности проростков зерновых культур.

Второй вариант теста

В подготовленные пластиковые стаканчики насыпают прокаленный песок до 2/3 объема. Песок увлажняют растворами солей (по 10 мл), приготовленными так же, как в первом варианте. В каждый стаканчик высаживают по 10 семян тест-растений, слегка заглубляя их в песок и равномерно распределяя по поверхности. Стаканчики размещают на рассеянном свете, поливая небольшими порциями дистиллированной воды по мере подсыхания поверхности песка.

Полив дистиллированной водой необходим для сохранения исследуемой концентрации соли, т.к. при испарении с поверхности песка и транспирации концентрация соли увеличивается, а добавление необходимого количества дистиллята восстанавливает необходимую концентрацию.

Через 14 дней песок аккуратно высыпается на лист бумаги и из него осторожно извлекают проросшие семена. Проростки промывают и проводят те же измерения, что и в предыдущем варианте. Заполняют таблицу. Делают выводы.

Таблица 3.1

Схема записи результатов

Испытуемое вещество, концентрация (мг/л)	Номера чашек	Кол-во проростков	Удельная токсичность $\frac{K - O}{K} \times 100\%$	Длина проростков, особенно-сти	Удельная токсичность $\frac{K - O}{K} \times 100\%$
CuSO ₄ 0,0004	1... 5				
0,004	1... 5				
0,04	1... 5				
.....					
Контроль	1... 5				

Лабораторная работа № 53. Влияние солей тяжелых металлов на гликолитическую активность дрожжей

Дрожжи являются одними из наиболее изученных биологических объектов, поэтому их удобно использовать и как объекты для токсикологии. Они быстро размножаются. Их активность достаточно просто определить.

Оборудование и материалы

1. Пипетки мерные на 10 мл.
2. Карандаши по стеклу.
3. Небольшие пузырьки (пенициллинки) для разведения солей.
4. Пробирки, которые необходимо предварительно отобрать одинакового диаметра и размера.
5. Парафин.
6. Растворы солей тяжелых металлов с концентрацией 0,5 М: CuSO_4 (ПДК 0,004 мг/л); $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (ПДК 0,03 мг/л); $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (ПДК 0,0005 мг/л); KMgO_4 (ПДК 0,01 мг/л);
7. Препарат дрожжей (сухие дрожжи распускают в воде, добавляют сахар из расчета 5 г/100 мл).

Ход анализа

Из первоначального раствора соли тяжелого металла методом последовательных разбавлений в 5 раз готовятся растворы с концентрацией 0,1; 0,02; 0,004; 0,0008; 0,00016; 0,000032 М. В качестве контроля используют дистиллированную воду. Эти растворы солей разливают в пробирки по 5 мл и добавляют по 1 мл препарата дрожжей.

Парафин расплавляют и осторожно наливают в пробирки, стараясь не попадать на стенки. Когда парафин застывает, он образует плотную пробку, под которой создаются анаэробные условия.

Пробирки помещают в термостат при температуре 30 °С. В этой среде дрожжи сбраживают сахар, образуя этанол и углекислый газ. Объем выделившегося углекислого газа пропорционален активности гликолиза.

Через 7 дней измеряется величина подъема пробки, которая пропорциональна объему выделившегося углекислого газа.

Результаты оформляются в виде графика зависимости подъема парафиновой пробки от концентрации соли тяжелого металла.

Лабораторная работа № 54. Влияние солей тяжелых металлов на активность микроорганизмов почвы

Микроорганизмы – наиболее многочисленная и важная группа в почвенных биоценозах и экосистемах суши в целом. Именно разнообразные микроорганизмы минерализуют растительные и животные остатки, обеспечивая возврат различных элементов в глобальный круговорот. Именно деятельность микроорганизмов почвы формирует ее плодородие, переводя поступающие соединения в форму, доступную корневым системам растений.

В естественных экосистемах микрофлора почвы многочисленна и разнообразна. Антропогенные примеси способны нарушать природное равновесие, способствуя угнетению одних видов и доминированию дру-

гих. Кроме того, многие токсиканты ингибируют активность экзогенных ферментов, которые микроорганизмы выделяют в окружающую почву, что способствует нормальному функционированию почвенной биоты. Одним из наиболее распространенных ксенобиотиков, ингибирующих активность микроорганизмов, являются тяжелые металлы.

Оборудование и материалы

1. Чашки Петри,
2. Карандаши по стеклу;
3. Небольшие пузырьки (пенициллинки) для разведения солей;
4. Пипетки мерные на 10 мл;
5. Фильтровальная бумага;
6. Растворы солей тяжелых металлов с концентрацией 0,5 М: CuSO_4 (ПДК 0,004 мг/л); $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (ПДК 0,03 мг/л); $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (ПДК 0,0005 мг/л); KMgO_4 (ПДК 0,01 мг/л);
7. Образец почвы.

Ход анализа

Из первоначального раствора соли тяжелого металла методом последовательных разбавлений в 5 раз готовятся растворы с концентрацией 0,1; 0,02; 0,004; 0,0008; 0,00016; 0,000032 М. В качестве контроля используют дистиллированную воду.

В чашки Петри вносят слой почвы толщиной 0,5 см, затем вливают по 9–10 мл исследуемых солей. Поверх почвы накладывают кружок фильтровальной бумаги диаметром 5 см, чашки подписывают и помещают в термостат при температуре 20–22 °С на 7 дней. В процессе культивирования следят за тем, чтобы поверхность бумаги не высыхала. При необходимости ее смачивают небольшим количеством дистиллированной воды, чтобы избежать изменения концентрации солей.

На следующем занятии аккуратно вынимают кружки бумаги, осторожно отмывают от комочков земли и оценивают результаты. Бактерии, разрушающие клетчатку, всегда присутствующие в почве в ходе жизнедеятельности, выделяют окрашенные продукты.

Плесневые грибки рода *Аспергилл* (*Aspergillus*) проявляют желтую окраску, а грибки рода *Триходерма* (*Trichoderma*) – темно-зеленую. По размеру и характеру окрашивания можно судить об активности микроорганизмов.

Изображение пятен переносится на кальку, и определяется площадь окрашивания.

На основании полученных результатов составляется график зависимости активности микроорганизмов от концентрации тяжелых металлов в почве.

Делают выводы о том, какая соль тяжелых металлов проявляет наибольшую токсичность.

Лабораторная работа № 55. Расчетные задачи

Задача 1

При сжигании угля на ТЭЦ и на мусоросжигательном заводе с золой происходит значительный выброс тяжелых металлов (табл. 3.2).

Используя исходные данные, оцените суммарную эмиссию токсикантов по трем классам опасности (табл. 3.3) за расчетный период.

Таблица 3.2

Удельный выброс тяжелых металлов с золой при сжигании угля на ТЭЦ и мусора, мг/кг топлива

Металл	Мусоросжигательный завод	Угольная электростанция
Мышьяк	180	490
Барий	2100	1900
Бериллий	4	30
Кадмий	500	30
Хром	650	370
Кобальт	140	40
Медь	1450	300
Свинец	20000	2100
Ртуть	130	5
Стронций	290	1800
Ванадий	160	850
Цинк	48000	2800

Таблица 3.3

Классы опасности тяжелых металлов

Класс опасности	Тяжелый металл
I	Мышьяк, кадмий, ртуть, свинец, цинк
II	Кобальт, никель, молибден, медь, хром, сурьма
III	Барий, ванадий, вольфрам, марганец, стронций

Исходные данные приведены в табл. 3.4.

Таблица 3.4

Данные по расходу сжигаемого угля и мусора

Исходные данные	Варианты									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Расчетный период, мес. (t)	6	5	6	5	4	6	3	5	6	3
Расход угля на ТЭЦ, т/сут. (m_1)	7,0	6,5	5,0	5,5	6,0	7,5	7,0	5,5	6,0	6,5
Масса сжиг. Мусора, т/сут. (m_2)	1,8	2,0	1,5	1,7	1,9	2,0	1,8	1,5	1,4	1,7

Чтобы рассчитать выброс токсикантов (кг) по группам опасности при работе ТЭЦ, используют формулу (3.2)

$$M_{1i} = 30q_{1i}m_1 t , \quad (3.2)$$

где q_{1i} – удельный выброс i -го металла, мг/кг топлива; m_1 – расход угля на ТЭЦ или мусора, т/сут; t – расчетный период, мес.

Чтобы рассчитать выброс тяжелых металлов при работе мусоросжигательного завода используют формулу (3.3)

$$M_{2i} = 30q_{2i}m_2 t , \quad (3.3)$$

где q_{2i} – удельный выброс i -го металла, мг/кг топлива; m_2 – масса сжигаемого мусора, т/сут; t – расчетный период, мес.

Произвести расчет и сделать выводы.

Задача 2

В сертифицированной лаборатории, определяющей качество продуктов питания, получены следующие данные по содержанию тяжелых металлов в пересчете на 100 г навески (табл. 3.5).

Охарактеризуйте наличие тяжелых металлов с точки зрения допустимости употребления продуктов человеком, используя сведения о ПДК (табл. 3.6).

Таблица 3.5

Содержание тяжелых металлов в продуктах питания, мг/100 г.

Тяжелые металлы, мг	Варианты									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Продукт питания	рыба морская мороже-ная	крупы	сахар-песок	шоко-лад	моло-ко	овощи свежие	чай	мясо	колбаса вареная	поч-ки
Pb	0,05	0,02	0,05	0,2	0,01	0,03	0,8	0,03	0,07	0,2
Cd	0,01	0,005	0,01	0,05	0,002	0,001	0,3	0,004	0,01	0,1
As	0,4	0,01	0,06	0,06	0,008	0,01	0,3	0,004	0,01	0,1
Hg	0,1	0,001	0,002	0,04	0,005	0,001	0,005	0,002	0,003	0,05
Cu	0,7	0,8	0,05	6	0,07	0,4	25	0,3	1	5
Zn	3	3	0,2	10	5	0,8	15	5	10	15

Таблица 3.6

Предельно-допустимые концентрации тяжелых металлов в продовольственном сырье и продуктах, мг/кг

Пищевые продукты	Pb	Cd	As	Hg	Cu	Zn
1	2	3	4	5	6	7
Хлебобулочные и кондитерские изделия						
Зерновые	0,5	0,1	0,2	0,03	10	50
Зернобобовые	0,5	0,1	0,3	0,02	10	50
Крупы	0,5	0,1	0,2	0,03	10	50
Мука, кондитерские изделия	0,5	0,1	0,2	0,02	10	50
Хлеб	0,3	0,05	0,1	0,01	5	25
Бараночные и сухарные изделия	0,5	0,1	0,2	0,02	10	30
Соль поваренная	2	0,1	1	0,01	3	10
Сахар-песок	1	0,05	0,5	0,01	1	3
Крахмал	0,5	0,1	0,1	0,02	10	30
Орехи (ядро)	0,5	0,1	0,3	0,03	20	50
Печенье	0,5	0,1	0,3	0,02	10	30
Какао-порошок и шоколад	1	0,5	1	0,1	50	70
Молочные продукты						
Молоко, кисломолочные продукты	0,05	0,03	0,05	0,05	1	5
Молоко консервированное	0,3	0,1	0,15	0,015	3	15
Молоко сухое	0,05	0,03	0,05	0,005	1	5
Сыры, творог	0,3	0,2	0,3	0,03	4	50

Продолжение табл. 3.6

1	2	3	4	5	6	7
Масло сливочное	0,1	0,03	0,1	0,03	0,5	5
Растительные продукты						
Масло растительное	0,1	0,05	0,1	0,05	1	5
Овощи свежие	0,5	0,03	0,2	0,02	5	10
Фрукты, ягоды	0,4	0,03	0,2	0,02	10	10
Грибы	0,5	0,1	0,5	0,05	10	20
Чай	10	1	1	0,1	100	10
Консервы овощные и фруктовые	0,5	0,04	0,2	0,02	5	10
Овощи и фрукты сушеные	0,5	0,03	0,2	0,02	5	10
Пряности и специи	5	0,2	5	-	-	-
Мясные продукты						
Мясо и птица (свежие и мороженые)	0,5	0,05	0,1	0,03	5	70
Колбасы вареные	0,5	0,05	0,1	0,03	5	70
Яйца	0,3	0,01	0,1	0,02	3	50

Продолжение табл. 3.6

1	2	3	4	5	6	7
Консервы из мяса и птицы	1	0,07	0,1	0,03	5	70
Почки и продукты их переработки	1	1	1	0,2	15	200
Рыбные продукты						
Рыба свежая и мороженная пресноводная:						
хищная	1	0,2	1	0,6	10	10
нехищная	1	0,2	1	0,3	10	40
Рыба свежая и мороженная морская	1	0,2	1	0,4	10	40
Рыба тунцовая	2	0,2	5	0,7	10	40
Рыба консервированная:						
пресноводная	1	0,2	1	0,3	10	40
морская	1	0,2	5	0,4	10	40
тунцовая	2	0,2	5	0,7	10	40
Моллюски и ракообразные	10	2	2	0,2	30	200

Лабораторная работа № 56. Биотестирование токсичности биогенных и небιοгенных тяжелых металлов с помощью проростков зерновых культур

Проростки зерновых культур (сем. Мятликовые) – пшеницы, ржи, ячменя отличаются исключительной отзывчивостью на изменение условий окружающей среды и стали в настоящее время классическими тест-культурами.

Проростки зерновых культур реагируют на внешние факторы:

- изменение морфологических признаков;
- изменение химического состава;
- появление аномалий в развитии;
- снижение всхожести;
- физиологическими сдвигами;
- степенью развития грибных заболеваний и т.п.

Таким образом, суть биотестирования состоит в определении отдельных из указанных реакций и в анализе полученных данных. Достоверность результатов наблюдений достигается использованием большого числа повторений (не менее 5) в каждом варианте, а также при статистической обработке полученных данных.

Оборудование и материалы

1. Чашки Петри.
2. Фильтровальная бумага.
3. Марля.
4. Пипетки мерные на 10 мл.
5. Небольшие пузырьки (пенициллинки) для разведения солей.
6. Растворы солей тяжелых металлов: CuSO_4 (ПДК 0,004 мг/л) $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ (ПДК 0,03 мг/л), $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$ (ПДК 0,0005 мг/л), KMgO_4 (ПДК 0,01 мг/л).
7. Семена тест-культур должны принадлежать к одному виду и сорту, соответствовать 1 классу, быть одного года урожая (предыдущего или непосредственно года проведения исследования), не обработанными протравителями. Предназначенные для проращивания семена предварительно прогревают при температуре 30–40 °С в течение 5–7 суток.

Ход анализа

Из исходных растворов солей приготавливают рабочие растворы путем последовательного разведения. Для работы необходимо приготовить растворы, соответствующие 1ПДК, 10 ПДК и 0,1 ПДК. Для тестирования каждой концентрации готовят не менее 5 чашек Петри.

В чашки Петри выкладывают по 2 кружка фильтровальной бумаги, на которую помещают 2-4 слоя марли. На подготовленную чашку аккуратно с равными промежутками выкладывают семена бороздкой (ши-

рокая продольная полоса на зерновке) вниз. Сверху семена накрывают еще одним слоем фильтровальной бумаги. На чашке подписывают номер группы, исследуемое вещество, концентрация. Затем на каждую чашку аккуратно наносят по 10 мл исследуемых веществ. Накрывают крышкой и помещают в термостат на проращивание при температуре 20 °С. Помимо опытных чашек закладываются контрольные, в которые вместо растворов солей вносят по 10 мл дистиллированной воды.

Через 7 (14) дней чашки Петри достают из термостата, проводят необходимые наблюдения и исследования. Выбраковывают образцы, отличающиеся от массива чашек в варианте. В принципе, испорченных образцов быть не должно. Если «нетипичных» чашек две и более на вариант – вариант бракуется полностью.

Далее проводятся следующие наблюдения и замеры, а данные записывают в соответствующие таблицы. Количество взошедших, нормально развитых побегов. Взошедшим считается побег длиной 5 и более мм. Нормальные побеги не должны иметь видимых морфологических изменений. Измеряют длину образовавшихся проростков, отмечают имеющиеся морфологические изменения (увядание, почернение и т.п.).

Определяют удельную токсичность в отношении прорастания семян и в отношении нарушения роста проростков. Анализируют наличие морфологических отклонений у проростков. Делают выводы о степени токсичности различных концентраций солей тяжелых металлов на отдельные стороны жизнедеятельности проростков зерновых культур. Результаты наблюдений записывают в табл. 3.7

Таблица 3.7

Результаты определения токсичности тяжелых металлов в опыте с проростками пшеницы

Испытуемое вещество, концентрация (мг/л)	Номера чашек	Кол-во проростков	Удельная токсичность $\frac{K - O}{K} \times 100\%$	Длина проростков, особенности	Удельная токсичность $\frac{K - O}{K} \times 100\%$
CuSO ₄ 0,0004	1... 5				
0,004	1... 5				
0,04	1... 5				
.....					
Контроль	1... 5				

3.2. Биотестирование загрязнения различных сред органическими ксенобиотиками

Большинство ксенобиотиков, являясь абсолютно чужеродными для биологических организмов веществами, тем не менее способны ими активно аккумулироваться.

Явление аккумуляции включает взаимодействие вещества с организмом, поэтому факторы, определяющие степень накопления, должны включать характеристики как самого ксенобиотика, так и организма.

Устойчивость. Для того чтобы ксенобиотик мог накапливаться в организме, его воздействие должно быть достаточно длительным, особенно когда оно осуществляется через цепь питания. Следовательно, любое аккумулирующееся вещество должно быть устойчивым к возможным в данной среде процессам разрушения (персистентным). Способность вещества накапливаться в конкретном организме характеризуется периодом его полувыведения из этого организма. Обычно те ксенобиотики, которые устойчивы в окружающей среде, в большинстве организмов имеют относительно продолжительные периоды полувыведения и способны накапливаться в сравнительно больших количествах [Хазиев Ф.М., 1976].

Площадь поверхности. Если процесс аккумуляции чужеродного вещества включает физические стадии (адсорбция, диффузия), степень его накопления в большей мере зависит от площади поверхности контакта организма с окружающей средой. Это положение можно применить к таким случаям, как адсорбция растениями пестицида из воздуха после опрыскивания или адсорбция организмами ПХБ в водной среде. Величина поверхности на единицу массы или объема повышается при уменьшении размера частицы. Следовательно, если адсорбция в процессе аккумуляции играет значительную роль, то можно ожидать, что более мелкие организмы будут накапливать в единице объема большее количество вещества, чем более крупные. Действительно, существуют заметные различия в способности накопления веществ у клеток неодинаковой величины. Так, шесть видов водорослей, различающихся размерами, в разных количествах накапливали ДДТ. У тех видов, которые имели более крупные клетки, способность накапливать ДДТ была более низкая. Убитая культура клеток водорослей имела приблизительно такую же способность к аккумуляции ДДТ, как и живые организмы. Это возможно при поглощении веществ по адсорбционному механизму, не требуется расхода энергии. Отмечено также, что нитчатые водоросли, которые образуют длинные нити с очень большой поверхностью, обладают более высокой способностью аккумулировать вещества из водной среды по сравнению с другими

видами, имеющими меньшую поверхность. Следовательно, доступная для вещества поверхность относится к лимитирующим факторам, особенно в тех случаях, когда адсорбция является определяющим процессом в накоплении.

Распределение. Большинство организмов содержит значительные жировые отложения. В этих тканях накапливаются ксенобиотики с большими значениями коэффициента распределения. Содержание жира в организме также указывает на его способность аккумулировать вещества данного типа. Так, способность аккумулировать ПХБ коррелирует с содержанием липида в планктоне. Таким образом, степень аккумулирования вещества зависит от его способности распределяться в жировых депо [Хазиев Ф.М., 1976].

Способность данного ксенобиотика распределяться в жировых депо организма может также влиять на период его полувыведения. Жировые ткани не самые активные в процессах метаболического преобразования. Следовательно, если вещество распределилось в таких тканях, оно может сохраняться там до тех пор, пока организм не израсходует весь жир.

Среда обитания. Устойчивые в окружающей среде ксенобиотики очень плохо растворяются в воде. Из этого следует, что среда обитания конкретного организма может существенно влиять на его способность аккумулировать ксенобиотики. Организмы, обитающие на дне среди осадков, подвергаются воздействию более высоких концентраций ксенобиотика, чем находящиеся в верхних слоях того же самого участка водоема.

На процесс аккумулирования может влиять и *размер частиц*, проглатываемых организмами. Поскольку на более мелких частицах, как уже отмечалось, адсорбированное на их поверхности чужеродное вещество содержится в более высоких концентрациях, организмы, проглатывающие такие частицы, будут подвергаться воздействию более высокого содержания ксенобиотика.

Важным фактором является и *количество потребляемой пищи*. Организмы, нуждающиеся в относительно большом количестве пищи, могут аккумулировать чужеродное вещество из окружающей среды в большей степени при условии, что процесс накопления ксенобиотика не компенсируется более активным процессом его выведения.

Цепь питания. Ксенобиотики в массовых количествах поступают в неорганические элементы биосферы (воздух, вода, почва). Находясь во внешней среде, чужеродные соединения взаимодействуют с различными органическими элементами биогеоценозов, микроорганизмами, растениями, животными, и в конечном итоге поступают по трофическим цепям в организм человека. В этих условиях суммарное количество ксенобиотиков, поступающих в организм, в значительной степени определяется интенсивностью их разрушения под действием фи-

зико-химических факторов среды (свет, вода, тепло и др.), скоростью их деструкции в предшествующих элементах трофических цепей и закономерностями биоконцентрации [Хазиев Ф.М., 1976].

Таким образом, любая экологическая система является совокупностью абиотических элементов, а также живых организмов, обменивающихся химическими компонентами, энергией и связанных между собой трофическими цепями. Установлено, что по мере движения ксенобиотика по пищевой цепи к следующему консументу, в организме которого он метаболизируется в незначительной степени, происходит существенное увеличение концентрации чужеродного вещества.

При рассмотрении распределения любого ксенобиотика в экосистеме необходимо учитывать биологические аспекты, иметь определенные сведения об относительном положении различных видов в цепи питания, а также информацию о плотности популяций различных организмов и скоростях поглощения ими данного вещества.

В условиях поступления в организм чужеродных химических веществ, которые не могут быстро метаболизироваться и полностью экскретироваться во внешнюю среду, начинается накопление этих веществ по ходу пищевой цепи. При этом, поскольку организмы-потребители, стоящие на более высоких уровнях экологической пирамиды, обладают меньшей суммарной биомассой по сравнению с организмами предыдущего уровня, происходит последовательная биоконцентрация токсикантов, достигающая максимальных значений у конечных консументов, которыми могут являться люди.

Совокупная реакция организма на воздействие токсиканта определяется в числе прочего наличием эволюционно выработанных защитных систем, к которым относятся физиолого-биохимические системы биотрансформации, экскреции ксенобиотиков и система иммунного гомеостаза.

В водных и наземных системах механизмы аккумуляирования ксенобиотиков различны, мало того, они могут отличаться даже в пределах одной системы.

Основные группы экологически значимых ксенобиотиков

Пестициды – это химические препараты для уничтожения сельскохозяйственных и лесных вредителей. Их активное применение началось в 1940-х гг.

Особенно эффективными средствами борьбы оказались хлорорганические соединения. Очень важен аспект перехода ксенобиотиков из гидрофильной среды в гидрофобную и обратно. Он заключается в том, что при этом изменяется доступность молекул для ферментов. Подавляющее большинство действуют в водной среде. Переход молекул ксенобиотиков из водной среды в гидрофобную означает уменьшение их до-

ступности для ферментов, и следовательно снижение их подверженности биотрансформации и детоксикации. К тому же гидрофобность ряда мутагенов обуславливает их повышенную способность к биоаккумуляции [Багоцкий С.В., 1992].

Доступность ксенобиотика для ферментов, а также его «деградбельность» снижается в результате ещё одного процесса – сорбции молекул на частицах биологического и абиотического происхождения. Процессы сорбции и десорбции ксенобиотиков нередко определяют персистентность поллютантов или их подверженность переносу в биосфере на большие расстояния вместе с теми частицами, на которых данное загрязняющее вещество адсорбировано [Кулинский В.И., 1999].

Изменение физико-химических свойств веществ в результате модификации структуры их молекул, сорбция ксенобиотиков на частицах оказываются важными для таких принципиально существенных этапов в судьбе мутагенов, как переходы веществ и их метаболитов из одного блока биогеоценоза в другой (переходы ксенобиотиков из воды в воздух и обратно, из организмов в воду и обратно, из почвы в воду и так далее).

Подобные переходы могут иметь решающее значение для крупномасштабного переноса ксенобиотиков в биосфере. Например, летучесть ряда пестицидов и их переход в результате испарения из почвы или воды в воздух обуславливает их дальнейший перенос на большие расстояния с воздушными массами [Мельников Н.Н., 1992].

Именно летучесть хлорорганических пестицидов, в том числе ДДТ, линдана, диэльдрин и метаболитов ДДТ (ДДЭ и ДДД), способствует их испарению с поверхности тех агробиоценозов, где они применяются, и переносу с воздушными массами в другие регионы, где они обнаруживаются в атмосферных осадках.

Данные, получаемые в последнее время, показывают, что способности ксенобиотиков к миграции значительно выше, чем полагали ранее. Например, пестициды могут переноситься (в виде мелких частиц и паров) с атмосферным воздухом по всей биосфере [Мутагены..., 1994].

Рассмотрим миграцию мутагенных ксенобиотиков на примере хлоруглеводородов и полициклических ароматических углеводородов (ПАУ).

Хлорорганические соединения при сжигании муниципального мусора дают такие соединения, как гексахлорбензол, полихлордифенилы, полихлордибензодиоксины, полихлордифенилы и полихлордибензофураны. Кроме того, ряд хлорорганических соединений нашёл применение в качестве средств борьбы с различными вредителями (ДДТ, гексахлорциклогексан, альдрин, дильдрин, гептахлор, хлордан, кептон, мирекс) [Мельников Н.Н., 1992].

В почве период полураспада ДДТ в зависимости от климатических условий колеблется в довольно широких пределах. Существенную роль играют также температура, влажность и состав органической части почв.

Отмечено, что ДДТ с почвенным раствором может поступать в листья растений и сохраняться в них значительное время. Хотя растворимость ДДТ в воде очень мала, в листьях растений он может накапливаться в существенных количествах, что связано с большим испарением воды. В плодах (например, яблоки) накопление ДДТ не происходит, так как через плоды не идёт испарение воды [Майстренко В.Н., 1996].

Полихлордифенилы (ПХД) имеют более высокую персистентность и более токсичны по сравнению с ДДТ. ПХД – белые кристаллические вещества, плохо растворимые в воде и хорошо растворимые в гидрофобных органических растворителях, в том числе в липидах.

Высокая стабильность ПХД к гидролизу и другим химическим воздействиям приводит к накоплению их в окружающей среде, тем более, что метаболизм и выведение ПХД из разных организмов протекает весьма медленно.

Основная часть канцерогенных ПАУ попадает в атмосферу, на почву и в водоёмы в выбросах с дымовыми газами из тепловых устройств и двигателей, в виде уноса в промышленных и отчасти бытовых сточных водах, в составе дорожных и изоляционных покрытий, при разливе и потерях всевозможных видов жидкого топлива, битумов и так далее [Головко А.И., 1999].

Значительная доля осаждённых на почве загрязнений уносится в дальнейшем грунтовыми, ливневыми и паводковыми водами в реки, озёра и в конечном счёте в моря. В силу ограниченной растворимости некоторая их часть накапливается в донных отложениях и постепенно вновь поступает в воду. Канцерогенные и мутагенные ПАУ из почвы, воды и воздуха частью переходят в живой мир – растения, ткани животных и рыб, организм человека – непосредственно или в составе пищевых продуктов [Кулинский В.И., 1999].

У многих организмов (включая позвоночных животных, а также членистоногих) описана окислительная активность монооксигеназных систем с участием цитохромов Р-450, которые способны метаболизировать широкий круг ксенобиотиков, включая пестициды, полихлорбифенилы, ПАУ, фенолы природного и антропогенного происхождения и многие другие вещества [Майстренко В.Н., 1996]. Высшие организмы сохраняют также способность к реакциям конъюгации, которые, как полагают, эволюционно возникли ещё у таких беспозвоночных животных, как плоские черви и иглокожие [Головко А.И., 1999].

У бактерий метаболизм поллютантов происходит под воздействием множества различных ферментов (как и у животных).

Среди микроорганизмов встречаются штаммы, осуществляющие неполную деградацию поллютантов. Поэтому полное разрушение,

например, пестицидов требует совместного действия нескольких организмов и абиотических факторов.

Общая картина реакций деградации усложняется тем, что наряду с микроорганизмами большую роль играют реакции с участием свободных радикалов и другие процессы.

Биотрансформация мутагенных соединений под воздействием микроорганизмов и ферментов протекает и в почвах. Изучение этих реакций в почвах затруднено крайней гетерогенностью среды и адсорбцией ксенобиотиков, микроорганизмов и ферментов на частицах и коллоидах почв [Колесников С.И. и др., 2006].

Даже если микроорганизм обладает необходимым для разрушения поллютанта ферментным аппаратом, он не всегда может его полностью использовать из-за отсутствия необходимых дополнительных субстратов или кофакторов. Поэтому многие поллютанты (например, ДДТ) могут разлагаться рядом микроорганизмов только в условиях кометаболизма, то есть при обеспеченности соответствующими косубстратами, кофакторами и так далее.

После запрета на использование подавляющего большинства полихлорированных органических пестицидов им на смену пришли сельскохозяйственные ядохимикаты, принадлежащие к другим классам органических соединений, в частности, производные тиофосфорной кислоты.

Фосфорорганические пестициды (ФОП) применяются в сельском и лесном хозяйстве, животноводстве, быту с целью уничтожения разнообразных вредителей и возбудителей болезней полезных растений, паразитов животных, а также для уничтожения сорняков.

Вначале они обратили на себя внимание как боевые отравляющие вещества (в 1938 году в Германии был синтезирован газ зарин). В конце Второй мировой войны были сделаны промышленные установки по синтезу первых пестицидов.

Фосфорорганические пестициды – потенциальные источники весьма тяжелых отравлений людей как в условиях сельскохозяйственного производства, так и в быту. Бытовые отравления хлорофосом характеризуются высокой степенью летальности – 20–30 %. В основе токсического действия ФОП лежит их взаимодействие с холин-эстеразой (ХЭ), ведущее к торможению ее активности. Ингибирование ХЭ с последующим быстроразвивающимся нарушением метаболизма ацетилхолина дает основание рассматривать ФОП как синаптические яды, подавляющие передачу нервного импульса в холинреактивных системах.

Установлено, что ФОП оказывают повреждающее действие на мембрану, а именно: снижают скорость АТФ-зависимого транспорта Ca^{2+} в микросомах печени крыс, стимулируют перикисное окисление липидов биологических мембран, приводящее к нарушению их функци-

онального состояния, и т.д. Наиболее вероятные пути поступления ФОП в организм человека и животных – через желудочно-кишечный тракт, кожу и ингаляционным путем. Особенности биотрансформации этих соединений во многом определяют характер их воздействия на биологические объекты. Разнообразие метаболических превращений ФОП, участие в этих процессах разнородных ферментативных систем и их выраженные видовые особенности во многом определяют избирательность токсического действия.

К положительным моментам следует отнести быструю деградацию ФОП: сколько-нибудь существенного их накопления в почве не отмечено. Однако даже непродолжительное сохранение ФОП в почве ведет к последующему проникновению их в культивируемые на обработанных площадях растения, в грунтовые воды и атмосферу. Доказана возможность появления ФОП в моркови, рапсе, луке при их использовании в качестве инсектицидов [Багоцкий С.В., 1992].

Проникновение в растения – не единственный путь миграции ФОП в почве. Эти пестициды быстро мигрируют по профилю почвы, где происходит достаточно интенсивная их деградация (в отличие от хлорированных пестицидов). При попадании ФОП в водоемы их деградация идет преимущественно по гидролитическому пути. Тем не менее ФОП могут представлять серьезный источник экологической опасности для человека. Эта опасность становится реальной главным образом в результате нарушения норм и правил применения пестицидов, а также условий их хранения, что влечет за собой их нерегламентированное попадание в окружающую среду.

Лабораторная работа № 57. Определение токсичности хлорорганических пестицидов по разрушению хлорофилла методом высечек листьев

Хлорофилл является сложной молекулой, которая обладает высокой фотохимической активностью, однако в силу своей реакционной подвижности она довольно неустойчива. При воздействии различных токсичных веществ хлорофилл в листьях способен подвергаться различным трансформациям, которые приводят к образованию окисленных форм или полному разрушению молекулы. Это свойство хлорофилла широко используется для определения токсичности веществ. Разрушение хлорофилла легко регистрируется визуально по появлению хлорозов и некрозов.

В данной работе используется пестицид 2,4 Д, который в низких концентрациях может оказывать стимулирующее действие на растения, а в высокой обладает гербицидной активностью. Разведение солей необ-

ходимо проводить в растворе сахарозы, чтобы избежать дополнительного негативного действия осмотического стресса на высечки растений.

Каждая рабочая группа (2–3 студента) использует один вид растений, таким образом, в каждой учебной группе исследуют 5–7 видов растений, что позволяет выделить наиболее чувствительные виды.

Оборудование и материалы

1. Стерильные чашки Петри, в которые перед стерилизацией помещают по два кружка фильтровальной бумаги в каждую.

2. Пипетки мерные на 10 мл.

3. Небольшие пузырьки (пенициллинки) для разведения пестицида.

4. Раствор пестицида 2,4Д (концентрация 10^{-3} %).

5. Стерильный раствор сахарозы 2%-й.

6. Листья растений (уличных или комнатных, в зависимости от сезона).

7. Пробочные сверла.

8. Карандаши по стеклу.

Ход анализа

Из исходного раствора пестицида приготавливают рабочие растворы путем последовательного разведения. Для работы необходимо приготовить растворы, соответствующие 10^{-4} , 10^{-5} и 10^{-6} %. Необходимо помнить, что все разведения проводят с использованием в качестве растворителя 2%-й раствор сахарозы. Для тестирования каждой концентрации готовят не менее 5 чашек Петри.

Пробочным сверлом делают высечки из исследуемых листьев растений, не задевая крупные жилки, из расчета 10 высечек на чашку.

Чашки подписывают, указывая концентрацию пестицида и вид растения. В подписанные чашки с двумя фильтрами аккуратно, слегка приоткрывая крышку, вносят по 10 мл подготовленных растворов в каждую чашку. В одну серию чашек вносят только чистый раствор сахарозы (контроль).

Далее на поверхности фильтра равномерно размещают высечки верхней стороной листа – к фильтру. Чашки Петри помещают в термостат при температуре 20–25 °C на 5–7 дней.

По истечении времени (на следующем занятии) чашки Петри достают из термостата, раскладывают по видам растений и концентраций и проводят оценку результатов. Для этого необходимо измерить площадь неповрежденных тканей листа в каждой чашке суммарно по всем 10 высечкам.

При этом измеряют диаметр одной высечки и рассчитывают ее площадь, а также вычитают площадь повреждения. Затем суммируют эти величины. Операцию повторяют для каждой чашки.

Результаты заносят в табл. 3.8.

Схема записи результатов

Вид растения концентрация пестицида (%)	Номера чашек	Площадь неповреждённых тканей	Относительная токсичность $\frac{K-O}{K} \times 100\%$
Тополь 10^{-3}	1... 5		
10^{-4}	1... 5		
10^{-5}	1... 5		
10^{-6}	1... 5		
Контроль	1... 5		

Определяют относительную токсичность пестицида для разных видов растений. Сравнивая величины относительной токсичности для разных видов растений, делают выводы о том, какой из исследованных видов является наиболее чувствительным и информативным.

Лабораторная работа № 58. Качественная реакция на определения наличия ДДТ в пищевых продуктах

Хотя, как было сказано выше, применение ДДТ было запрещено в развитых странах еще в 80-х гг. XX в. его применение в странах Африки, Латинской Америки и Азии не прекращено до сих пор. Многие из этих стран в настоящее время являются экспортерами фруктов в нашу страну. Кроме того, некоторые количества ДДТ содержатся в окружающей среде по всему земному шару. Таким образом, невозможно полностью исключить попадание ДДТ в современный рацион.

Качественная реакция на ДДТ основана на образовании берлинской лазури, которая регистрируется визуально по появлению синего окрашивания.

Оборудование и материалы

1. Приготовление индикаторной бумажки. К 10 мл 1%-го водного раствора х.ч. красной кровяной соли добавляют такое же количество 3%-го раствора нитрата серебра. Образовавшийся белый осадок немедленно отфильтровывают и дважды промывают малыми порциями дистиллированной воды. Осадок с фильтра переносят в химический стакан и приливают такое же количество 25%-го раствора аммиака, чтобы по-

лучилась взвесь. Беззольные фильтровальные бумажки нарезают полосками, смачивают в приготовленной взвеси и высушивают. При этом аммиак улетучивается, а в порах бумаги остается железосинеродистое серебро. Реактивные бумажки можно хранить не более 3 месяцев.

2. Этиловый спирт.
3. Стеклобанка с притертой пробкой.
4. Электрическая плитка.
5. Водяная баня.
6. Пробирки.
7. Аппарат для перемешивания (встряхиватель).
8. Образцы импортных фруктов и овощей.

Ход анализа

10 г исследуемого материала помещают в колбу, заливают 10 мл этилового спирта, тщательно перемешивают и помещают в аппарат для перемешивания на 20–30 минут. Полученный экстракт фильтруют и фильтрат подвергают исследованию.

Вносят в пробирку 10 мг гидрокарбоната натрия, добавляют несколько капель фильтрата и выпаривают досуха на водяной бане. Дно пробирки обтирают насухо, содержимое ее прокаливают на электроплитке и охлаждают при комнатной температуре. Затем к осадку добавляют 1–3 капли серной кислоты с относительной плотностью 1,84, индикаторную бумажку смачивают 1%-м раствором 3-валентного сернокислого железа $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, закрывают ею пробирку и нагревают над плиткой в течение 1–2 мин. При наличии в исследуемом продукте ДДТ на реактивной бумажке появится голубое пятно – берлинская лазурь. Сделать выводы.

Лабораторная работа № 59. Токсикология фосфорорганических пестицидов

Фосфорорганические пестициды до настоящего времени достаточно широко применяются в сельском хозяйстве и быту. Применяемые в данной лабораторной работе методы относят к качественным, то есть они позволяют зарегистрировать наличие фосфорных соединений в исследуемом материале.

Оборудование и материалы

1. Полоски фильтровальной бумаги.
2. Пробирки с притертыми пробками.
3. Пробирки.
4. 1%-й раствор AgNO_3 .
5. 1%-й раствор $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.
6. Концентрированная серная кислота.

7. 10%-й раствор NaOH.
8. 10%-й раствор HNO₃.
9. Свежеприготовленный 10% раствор (NH₄)₂MoO₄.
10. Электрическая плитка.
11. Держатели для пробирок.
12. Ступки с пестиками.
13. Марля.
14. Стаканчики на 50 мл.
15. Фрукты, овощи, соки для исследования.

Ход анализа

Работа включает два этапа, на каждом из которых проводят одну из качественных реакций.

Из фруктов и овощей с помощью марли и при необходимости ступки выдавливают по 2–3 мл сока из каждого растения. Каждая рабочая подгруппа (2–3 студента) использует в тесте 3–4 вида фруктов и овощей, пакетированные соки.

1 реакция

2 полоски фильтровальной бумаги шириной на более 0,5–0,6 см смачивают наполовину: одну раствором нитрата серебра, другую – раствором уксуснокислого свинца. Подписывают и оставляют слегка подсохнуть.

1 мл наливают в пробирку с пробкой. Затем в нее вливают 1–2 капли концентрированной серной кислоты, стараясь не попадать на стенки пробирки. После чего, в пробирку опускают бумажки, чтобы они не касались друг друга, и зажимают их концы пробкой. Оставляют на 5–7 мин.

Под действием серной кислоты при наличии фосфорного иона выделяется газообразный фосфорный водород, который восстанавливает азотнокислое серебро. По прошествии времени полоски бумаги вынимают из пробирки и регистрируют результат. При наличии фосфора на полоске, смоченной азотнокислым серебром, появляются черные пятна, иногда с металлическим блеском. Вторая полоска не изменяет цвета. Делают выводы.

2 реакция

В чистую пробирку наливают оставшийся сок, добавляют такое же количество едкого натра, раствор при этом меняет цвет (как правило, желтеет или темнеет). Пробирку зажимают в держателе, аккуратно нагревают на электрической плитке до кипения и кипятят до минуты, следя, чтобы жидкость не испарилась. Затем пробирку остужают в штативе до комнатной температуры и прибавляют 3–4 капли свежеприготовленного раствора молибдата аммония и столько же азотной кислоты. При наличии фосфат-иона выпадает хлопьевидный желтоватый осадок. Количе-

ство выпавшего осадка позволяет судить о содержании фосфат-иона в пробе. Результаты, полученные группой в целом, заносят в табл. 3.9.

Таблица 3.9

Схема записи результатов

Вид растения	Результаты 1 реакции	Результаты 2 реакции

Результаты первой реакции оценивают с помощью знаков «+» (появление темного окрашивания) и «–» (отсутствие окрашивания).

Результаты второй реакции оценивают по количеству выпавшего осадка от одного до трех «+». Если осадок незначителен, то в таблицу заносится один «+», а если осадка более половины объема жидкости в пробирке – три «+». По результатам обеих реакций делают выводы о том, какие виды растений наиболее активно накапливают фосфорорганические пестициды. Строится ряд в порядке возрастания накопления. Делаются выводы.

3.3. Биотестирование токсичности ксенобиотиков в различных средах

Ксенобиотики, попадающие в экосистемы, могут претерпевать следующие основные этапы дальнейшей трансформации:

- реакции превращения, включающие такие основные стадии, как распад ксенобиотиков, окислительно-восстановительные и гидролитические реакции, реакции конъюгации;
- адсорбция на частицах биологического и абиотического происхождения;
- переход из одной среды в другую.

Реализация этих процессов в реальных биогеоценозах происходит при теснейшем взаимодействии между различными факторами. Например, распад (деградация) ксенобиотиков может осуществляться под действием ферментов, а также чисто физико-химическим путем вследствие фотолиза (действия света) или гидролиза (взаимодействия с водой).

В связи с неспособностью экосистем к полной биodeградации, точнее, к полной детоксикации, ксенобиотиков создается экологическая опасность, обусловленная наличием в биосфере как устойчивых (персистентных) или вообще не разлагающихся в окружающей среде ксенобиотиков, так и подвергающихся биodeградации [Хазиев Ф.М., 1976]. В этой связи возникает несколько возможных ситуаций:

- нарушение функционирования экосистем, связанное с наличием биоразрушаемых ксенобиотиков и обусловленное следующими причи-

нами: природой превращений и аккумуляцией ксенобиотиков; опасностью воздействия больших доз; воздействием малых концентраций

– нарушение функционирования экосистем, обусловленное наличием устойчивых ксенобиотиков, постоянно накапливающихся и оказывающих негативное воздействие.

Способность ксенобиотиков распространяться в окружающей среде создает проблемы, связанные с длительностью их сохранения в природных условиях. Поэтому знание скорости разрушения веществ биологическими системами является необходимым и ценным. Особенно это касается органических ксенобиотиков. Легко разрушаемые соединения большей частью не считаются потенциально опасными для окружающей среды. Конкретный ксенобиотик может легко разрушаться в одной среде, но может быть устойчивым в других условиях [Головкин А.И., 1999].

Наряду с определением скорости разрушения вещества очень важно также изучить, какие типы веществ образуются в процессе такого разрушения. Если органическое вещество разрушается полностью с образованием углерода и воды, как это происходит во многих микробных системах, такого вопроса не возникает.

При оценке экологической опасности необходимо учитывать природу и процессы метаболических превращений. Важно помнить тот факт, что почти любой органический ксенобиотик может метаболизироваться в каком-либо организме, и часто в результате довольно сложных последовательностей реакций образуются многочисленные метаболиты. Степень накопления метаболитов в организме зависит от относительных скоростей их образования и последующего метаболизирования и (или) вывода из организма. Метаболит накапливается в организме, если он вырабатывается с относительно высокой скоростью, тогда как последующие метаболические реакции идут с меньшей скоростью или скорость выведения метаболита из организма мала по сравнению со скоростью его образования [Хазиев Ф.М., 1976].

Экологическая опасность больших доз биоразрушаемых ксенобиотиков и остатков неразложившихся ксенобиотиков связана с возможностью нарушения практически всех элементов структуры и функционирования экосистем, включая видовое богатство и разнообразие видов, структуру популяций, стабильность и продуктивность экосистем. Необходимо подчеркнуть следующее: большие дозы ксенобиотиков могут нести огромную экологическую опасность, во-первых, поскольку они отравляют организмы раньше, чем те успевают их метаболизировать, и, во-вторых, в связи с накоплением этих веществ организмами. В результате биоконцентрации может усиливаться токсическое воздействие ксенобиотиков и ухудшаться качество кормовой базы для организмов высших трофических уровней.

Опасность сублетальных (малых) концентраций (доз) обусловлена следующими факторами:

а) может происходить хроническое отравление организмов, ведущее к падению репродуктивной способности. Например, отравление ПХБ и пестицидами способствовало развитию бесплодия в популяции тюленя в Балтийском море. В конечном итоге это может приводить к вымиранию популяции из-за снижения рождаемости;

б) может нарушаться тонкая регуляция межвидовых и внутривидовых взаимодействий, которая опосредована различными хемомедиаторами и хеморегуляторами;

в) сублетальные концентрации, оказывая неодинаковое влияние на конкурентные виды одного трофического уровня, могут нарушать естественный экологический баланс;

г) малые дозы ряда пестицидов, как оказалось, могут даже стимулировать воспроизводство популяций некоторых крайне нежелательных видов, наносящих экономический ущерб в агроэкосистемах. Так, в одной из серии опытов сублетальные дозы ДДТ, диэldrина и паратиона увеличивали отложение яиц колорадским жуком на 50,33 и 65 % соответственно [Майстренко В.Н., 1996].

Изучение путей биотрансформации ксенобиотиков в экосистемах и входящих в их состав организмах показывает, что экологическая опасность поллютантов определяется не только их непосредственной токсичностью, но и токсичностью и персистентностью продуктов их биотрансформации, а также способностью ксенобиотиков и продуктов их биотрансформации влиять на биохимические и физико-химические процессы в экосистемах. Принципиальное значение имеет соотношение между скоростью поступления ксенобиотиков в конкретные экосистемы и скоростью их деградации. Один из путей снижения нежелательных последствий загрязнения биосферы разработка, производство и применение биоразрушающихся соединений, т.е. материалов и веществ, относительно быстро разлагаемых в экосистемах без образования токсичных или персистентных продуктов распада.

В целом можно отметить, что ксенобиотики включают многие классы веществ, они способны мигрировать по всей биосфере и переходить из одной среды в другую: из атмосферы в океан, с суши в водоемы и так далее. Существует эффект синергизма, когда биологическое влияние многих ксенобиотиков, действующих совместно, усиливается, т.е. в функциональном смысле мы наблюдаем кумулятивный эффект, превышающий сумму эффектов отдельных веществ. Кроме того, продукты метаболизма многих ксенобиотиков оказываются более токсичными и канцерогенными, чем исходные соединения. Зачастую трансформация ксенобиотиков в объектах окружающей среды приводит к появлению бо-

лее персистентных соединений и остатков неразложившихся токсикантов. Многие ксенобиотики (например, гидрофобные пестициды, некоторые металлы и их соединения) способны аккумулироваться в живых организмах в значительно более высоких концентрациях, чем в окружающей среде. Однако даже низкие концентрации ксенобиотиков при длительном воздействии представляют экологическую опасность, поскольку могут в течение ряда поколений снижать воспроизводство популяции, приводить к их вымиранию [Кулинский В.И., 1999].

Лабораторная работа № 60. Определение токсичности проб поверхностных пресных вод по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer)

Планктонные одноклеточные водоросли (фитопланктон), как и высшие водные растения, представляют в водных экосистемах группу организмов-продуцентов.

Для экспериментов используют культуру водорослей (хлорелла) в экспоненциальной фазе роста. Большое значение имеет физиологическое состояние культуры, проверяемое по эталонному (стандартному) веществу.

Оценка влияния вещества на одноклеточные водоросли оценивается по показателям изменения численности клеток водорослей (снижение или увеличение) в опытной среде по сравнению с контролем.

Достоверное снижение численности клеток водорослей в растворе вещества является показателем токсического действия раствора вещества.

Критерием эвтрофирующего эффекта вещества является достоверное увеличение численности клеток водорослей в различных концентрациях вещества.

Питательную среду для культивирования водорослей готовят на дистиллированной воде. Чтобы избежать образования осадка в питательной среде, каждый ее компонент предварительно готовят отдельно в 100 мл дистиллированной воды (исходный раствор). Исходные растворы хранят в холодильнике при температуре от +2 до +4 °С в течение месяца, в случае помутнения производят их замену.

Из исходных растворов каждого вещества (кроме солей железа) по одному добавляют в колбу объемом 1 л, наполовину наполненную дистиллированной водой (добавление в последовательности расположения веществ в таблице). Доливают колбу дистиллированной водой до объема 1 л, перемешивают, после чего питательную среду стерилизуют в автоклаве (30 мин при 1 атм.) или кипячением на водяной бане в течение 30 мин. После охлаждения стерилизованной среды в нее добавляют соль

железа. Приготовленную среду хранят до использования в темном месте при комнатной температуре (табл. 3.10).

Для биотестирования используют альгологически чистую культуру водорослей *Chlorella vulgaris* Beijer, находящуюся в экспоненциальной стадии роста (через одни сутки после посева в культиватор КВ-05).

Клетки водоросли шаровидные или эллиптические диаметром 2–10 мкм (иногда больше), с тонкой оболочкой без слизи, одним или двумя ядрами и одним чашеобразным хлоропластом. Размножение бесполое – автоспорами, образующимися в результате деления содержимого материнской клетки. Количество автоспор от 2 до 32 в зависимости от условий выращивания.

Таблица 3.10

Среда для культивирования водорослей

Компоненты среды	Концентрация в среде для культивирования, г/дм ³		Концентрация исходных растворов для приготовления среды, г/100 см ³	
	Прата	Успенского № 1	Прата	Успенского № 1
KNO ₃	0,1	0,025	10,0	2,5
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,01	0,025	1,0	2,5
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	–	0,144	–	14,4
K ₂ HPO ₄ · 3H ₂ O	0,01	–	1,0	–
KH ₂ PO ₄ · 3H ₂ O	–	0,025	–	2,5
K ₂ CO ₃	–	0,0345	–	3,45
FeCl ₃ · 6H ₂ O	0,001	–	0,1	–

Деление происходит, как правило, один раз в сутки, однако в условиях интенсивной культуры она способна и к более активному размножению (4–8 делений в сутки). Такой интенсивный рост обеспечивает термофильный штамм этой водоросли, для которого оптимальной температурой культивирования является 36,0 ± 0,5 °С.

В данных условиях регулярно пересеваемая культура водоросли хлорелла за счет опережающего роста ее клеток может на протяжении длительного времени сохраняться альгологически чистой без применения специальных приемов очистки и стерилизации.

Ростовые характеристики культуры водоросли хлорелла определяются в многокуветном культиваторе КВМ-05. Прибор позволяет в одинаковых и контролируемых условиях по температуре, интенсивности света, снабжению СО₂ и перемешиванию одновременно выращивать 24 пробы культуры водорослей. При оптимальном режиме увеличение оптической плотности культуры водоросли и, следовательно, численности клеток за 22 часа составляет 25–35 раз. Таким образом, за это время дей-

ствие загрязняющих веществ, содержащихся в пробах, проявится примерно в пяти поколениях клеток водоросли.

Оборудование и материалы

1. Культиватор КВ-05.
2. Многокуветный культиватор КВМ-05.
3. Образцы воды для анализа.
4. Химические стаканы на 250 мл.
5. Карандаши по стеклу.
6. Флаконы-реакторы.
7. Измеритель ИПС-03.
8. Пипетки мерные на 10 мл.

Ход анализа

За сутки необходимо подготовить культуру водоросли, поместив бутыл, содержащую маточную культуру (5 мл) и 50%-ю среду Тамия (50 мл) в культиватор КВ-05.

В пять мерных стаканов отмеряют по 48 мл тестируемых вод (каждая проба в отдельный стакан). Дополнительно готовят один стакан с 48 мл дистиллированной воды (контроль). В каждый стакан вносят по 2 мл подготовленной культуры водоросли. Содержимое каждого стакана перемешивают и разливают по 6 мл во флаконы-реакторы (по 4 флакона на каждый вариант тестируемой воды, включая контрольную пробу).

Все 24 заправленных флакона закрывают чистыми полиэтиленовыми пробками, в которых для обеспечения оптимального газообмена со средой и предотвращения излишнего испарения культуральной жидкости сделаны отверстия диаметром 6 мм. После этого флаконы с пробками строго по вариантам устанавливаются в предварительно включенный в сеть культиватор КВМ-05. Флаконы загружаются в приостановленную кассету по ходу ее вращения, т.е. против часовой стрелки.

Через 22 часа культивирования выключают культиватор КВМ-05 из сети и проводят измерение оптической плотности суспензии водоросли во всех флаконах. Для этого флаконы извлекают из культиватора и размещают в штативе. Предварительно измеритель включают и дают прогреться 5–10 минут в зависимости от температуры в помещении. Перед проведением измерений в измеритель помещают флакон-реактор с дистиллированной водой и проводят контрольное измерение. Оптическая плотность должна помещаться в диапазон 0,7–0,8. После этого приступают к измерению опытных образцов, начиная с контроля. Затем, поочередно устанавливая флаконы в измеритель ИПС-03, проводят замеры их оптической плотности.

О степени острого токсикологического воздействия тестируемой воды на водоросли судят по разнице величины оптической плотности

тест-культуры в контрольных и опытных вариантах после 22 часов выращивания в культиваторе КВМ-05. С этой целью для каждого разведения по результатам четырех параллельных определений вычисляют среднее значение оптической плотности по формуле (3.4):

$$X = \frac{\sum X_i}{n}, \quad (3.4)$$

где X – среднее значение оптической плотности; X_i – значения оптической плотности в i -ом параллельном определении; n – количество параллельных определений.

Относительную (в %) разницу величины (I) оптической плотности для каждого разведения по сравнению с контролем рассчитывают по формуле (3.5):

$$I = \frac{X_k - X_o}{X_k} \cdot 100 \%, \quad (3.5)$$

где X_k и X_o – средние значения оптической плотности в контроле и в опыте, соответственно.

Результаты проведенного измерения и расчетов заносят в табл. 3.11.

Таблица 3.11

Схема записи результатов

Проба, вариант	Оптическая плотность	Среднее значение оптической плотности	Относительная токсичность, %
Контроль			
1			
2			
3			
4			
.....			
Проба 5			
21			
22			
23			
24			

Критерием токсичности пробы воды является снижение средней величины оптической плотности по сравнению с контрольным вариантом на 20 % и более, в случае подавления роста тест-культуры или ее повышение на 30 % и более при стимуляции ростовых процессов.

Делают выводы.

Лабораторная работа № 61. Определение токсичности воды и водных растворов химических веществ с помощью элодеи канадской (*Elodea canadensis* Rich.)

Работа изложена в «Методическом руководстве по биотестированию воды» (Утверждено Минприродой России от 27 апреля 2001 [Методические..., 2002]) и адаптирована в эколого-аналитической лаборатории факультета географии, геоэкологии и туризма Воронежского университета.

Элодея (*Elodea canadensis* Rich.) – представитель погруженных растений, широко распространенный в пресноводных водных объектах умеренной зоны. Размножается вегетативным путем за счет образования густо облиственных боковых отростков, побегов из подземных частей (корневищ) или из нижних частей летних побегов. Теневынослива. Температурная граница выживаемости лежит в пределах от +5 до +41,5 °С.

Для культивирования растения отбирают из естественной популяции условно чистого водного объекта в конце мая – начале июня, когда появляется много молодых, наиболее жизнеспособных растений.

У элодеи отбирают зеленые верхушечные побеги длиной 8–10 см без боковых отростков и корней, не имеющие видимых повреждений. Отобранные растения транспортируют в сосудах с водой, взятой из того же водного объекта.

В лаборатории элодею размещают в большие широкие, но не глубокие емкости (10–15 л). Растения проходят акклимацию при комнатной температуре в течение 7–10 дней, достаточной освещенности (лучше – в люминостатной установке) и при смене воды каждые 2–3 суток. Затем элодею можно использовать в биотестировании. Для проведения экспериментов и культивирования растений используют отстоянную водопроводную воду, которую процеживают через несколько слоев марли и заливают в аквариум с постоянной продувкой воздуха.

Сосуды располагают у окон на дневном рассеянном свете (с южной стороны). В воду добавляют среду Успенского № 1 (разведение 1:10), которая способствует быстрому образованию боковых отростков и увеличению биомассы растения и дает возможность круглогодичного содержания растений, пригодных для экспериментов.

Оборудование и материалы

1. Аквариумы на 10 - 15 л.
2. Кристаллизаторы объемом 1 л.
3. Стаканы объемом 0,5 л.
4. Термометр.
5. Линейки.
6. Глазной пинцет.
7. Лезвия.

8. Воронки.
9. Набор пипеток.
10. Стеклянные палочки.
11. Фильтровальная бумага.

Ход анализа

Для экспериментов используют верхнюю часть побега элодеи длиной 4 см без боковых отростков и корней. В кристаллизаторы с растворами исследуемого вещества и с водой без токсиканта объемом по 1 л помещают по 5 экземпляров. Для каждой концентрации и для контроля используют по три таких сосуда. Сосуды размещают у окон на дневном рассеянном свете с досвечиванием лампами дневного света при температуре 17–22 °С.

В учебной лабораторной работе можно оценивать токсичность солей тяжелых металлов, пестицидов, СПАВ и др. в различной концентрации. Критерием острой токсичности служит гибель 50 % и более растений за 96 ч в исследуемой воде при условии, что в контроле погибло не менее 10 % растений.

Хроническое токсическое действие исследуемой воды на растения оценивают по смертности и скорости роста за период до 24 суток в исследуемой воде по сравнению с контролем. Критерием хронической токсичности служит гибель 20 % и более тест-организмов и (или) достоверное отклонение в скорости роста из числа выживших растений по сравнению с контролем. Смену всех растворов и воды в контроле проводят через 2–5 суток. Состояние выборок учитывают каждые 5 суток. Результаты эксперимента записывают в табл. 3.12.

Таблица 3.12

Результаты биотестирования токсичности воды с помощью элодеи канадской

Испытуемое вещество концентрация (мг/л)	Дни экспозиции	Состояние растений	Прирост побега, см	Боковые побеги, см	Число корней и их длина, см
	1				
	2				
	3				
	4				
	...				
Контроль					

Оценку токсичности веществ для элодеи осуществляют по следующим параметрам:

а) состояние растений (изменение окраски, потеря тургора, повреждение точек роста и др.);

- б) выживаемость и прирост основного побега;
- в) число боковых отростков и их длина;
- г) число корней и длина.

Первый параметр оценивают в остром опыте, следующие – показатели хронической токсичности.

Прирост основного побега элодеи определяют, вычитая исходные 4 см. Суммарный прирост растения составляет из суммы прироста основного побега и длины боковых отростков. Прирост выражают в сантиметрах, число боковых отростков и корней – в штуках (экз.).

У элодеи в лабораторных условиях боковые отростки и корни появляются, как правило, на 10–20 сутки. Отмечают время их появления. Прирост, число и длину боковых отростков и корней рассчитывают на одно растение.

Проанализировать полученные результаты и сделать выводы о степени токсичности исследованных веществ на основе полученных данных.

Лабораторная работа № 62. Биотестирование токсичности воды с использованием Ряски малой (*Lemna minor* L.)

Работа изложена в Приказе Федерального агентства по рыболовству от 4 августа 2009 г. № 695 «Об утверждении Методических указаний по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения» [Постановление..., 1992] и адаптирована в эколого-аналитической лаборатории факультета географии, геоэкологии и туризма Воронежского университета.

Ряска малая (*Lemna minor* L.) – представитель группы растений с плавающими листьями. Тенелюбива, устойчива к низким температурам. Ее распространение ограничено участками водных объектов с рН от 6,2 до 7,5.

Для культивирования растения отбирают из естественной популяции водного объекта в конце мая – начале июня, когда много молодых, наиболее жизнеспособных растений. При отборе ряски выбирают растения с зелеными лопастями и с корнями, не имеющими видимых повреждений.

Отобранные растения транспортируют в сосудах с водой, взятой из того же водного объекта.

В лаборатории ряску помещают в кристаллизаторы объемом 1 л с речной или отстоянной водопроводной водой. В течение 7–10 дней растения проходят акклимацию при комнатной температуре и при достаточной

освещенности (лучше в люминоstatной установке), со сменой воды каждые 2–3 суток для удаления продуктов метаболизма. Для круглогодичного культивирования ряски в целях получения достаточного количества материала рекомендуют выращивать их на питательной среде (табл. 3.13) при круглосуточном освещении 7–8 лк и температуре +25 °С.

Среду автоклавируют при 1,5 атм в течение 20 мин.

Оборудование и материалы

1. Аквариумы на 10 - 15 л.
2. Кристаллизаторы объемом 1 л.
3. Стаканы объемом 0,5 л.
4. Термометр.
5. Линейки.
6. Глазной пинцет.
7. Лезвия.
8. Воронки.
9. Набор пипеток.
10. Стеклянные палочки.
11. Фильтровальная бумага.

Таблица 3.13

Питательная среда для выращивания ряски малой

Макроэлементы, мг/л	
KNO ₃	350,00
Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	295,00
KH ₂ PO ₄	90,00
K ₂ HPO ₄	12,60
MgSO ₄ ·7H ₂ O	100,00
Микроэлементы, мкг/л	
H ₃ BO ₃	120,00
Zn SO ₄ 7H ₂ O	180,00
Na ₂ MnO ₄ ·2H ₂ O	44,00
MnCl ₂ ·4H ₂ O	180,00
FeCl ₃ ·6H ₂ O	760,00
Трилон Б*	1500,00

Ход анализа

Для проведения биотестирования растения рассаживают в стаканы объемом 500 мл по 5 экземпляров. Выбирать следует только зеленые, здоровые растения с 2 дочерними листочками и приблизительно одинаковых размеров. В опытные стаканы помещают сточные воды или растворы солей тяжелых металлов, пестицидов, вытяжки почв и др., в контрольные – отстоянную воду с добавлением питательного раствора (1

мл). Стаканы помещают в люминостате или на рассеянном свете при температуре 22–25 °С и освещенности 3–4 лк.

Стаканы оставляют на 5–7 дней. После чего подсчитывают количество листецов в каждом контейнере. Если листецы слишком мелкие, можно воспользоваться лупой.

Острое токсическое действие исследуемой воды на ряску определяется по гибели ее за определенный период времени.

Подробно описать результаты эксперимента, сравнивая растения в опыте с контрольными. Отмечают общее состояние растений: изменение окраски, размер лопастей, состояние корней), число растений, лопастей и корней в штучках. Общее число лопастей составляет суммарный прирост ряски. Измерения длины проводят с помощью линейки. Результаты вносятся в табл. 3.14.

Учитывают сроки образования новых лопастей и корней, а также новых растений, которые приходятся примерно на 10–20-е сутки.

Таблица 3.14

*Результаты биотестирования токсичности воды с помощью
ряски малой*

Испытуемое вещество концентрация (мг/л)	Дни экспозиции	Состояние растений (окраска, увядание и др.)	Прирост листецов, шт.	Число корней и их длина, см
	1			
	2			
	3			
	4			
	...			
Контроль				

Проанализировать результаты эксперимента, сделать выводы.

Лабораторная работа № 63. Определение токсичности воды с использованием Дафния magna (Daphnia magna Straus)

Работа изложена в Приказе Федерального агентства по рыболовству от 4 августа 2009 г. № 695 «Об утверждении Методических указаний по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения» [Постановление..., 1992] и адаптирована в эколого-аналитической лаборатории факультета географии, геэкологии и туризма Воронежского университета.

Ракообразные включены в схему по определению ПДК вещества в качестве типичного представителя звена зоопланктона и важнейшего кормового объекта.

Кратковременное биотестирование – до 96 ч – позволяет определить острое токсическое действие воды на дафний по их выживаемости. Показателем выживаемости служит среднее количество тест-объектов, выживших в тестируемой воде или в контроле за определенное время. Критерием токсичности является гибель 50 и более процентов дафний за период времени до 96 ч в тестируемой воде по сравнению с контролем.

Длительное биотестирование (20 и более суток) позволяет определить хроническое токсическое действие воды на дафний по снижению их выживаемости и плодовитости. Показателем выживаемости служит среднее количество исходных самок дафний, выживших в течение биотестирования, показателем плодовитости – среднее количество молоди, выметанной в течение биотестирования, в пересчете на одну выжившую исходную самку. Критерием токсичности является достоверное отличие от контроля показателя выживаемости или плодовитости дафний.

Рачки вида *Daphnia magna* Straus (класс Crustacea, отряд Cladocera) обитают в стоячих и слабопроточных водных объектах, особенно часто – во временных лужах, и распространены повсеместно на территории России.

При культивировании и проведении токсикологических опытов необходимо поддерживать непрерывное партеногенетическое размножение рачков, учитывая особенности биологического цикла развития рачков.

Длительное культивирование дафний в лабораторных условиях позволяет установить пределы изменчивости основных биологических показателей рачков в зависимости от сезона. В оптимальных условиях содержания выживаемость дафний не зависит от времени года, оставаясь на уровне 80–100 % к концу опытов. Средние значения плодовитости за 30 суток опытов (за это время получают 7–8 пометов) составляют от 60 до 170 экземпляров молоди на одну самку. Могут наблюдаться повторяющиеся снижения плодовитости рачков в зимний (ноябрь–январь) и летний (июнь–июль) периоды. Длительность культивирования рачков в лаборатории в оптимальных условиях даже в течение 10 лет не влияет на результаты опытов.

Работу с дафниями необходимо проводить в помещении, где не используются химические летучие вещества. Недопустима также обработка помещения хлор- и фосфорорганическими пестицидами для борьбы с насекомыми и грызунами.

Дафний отлавливают в природном водном объекте (или получают культуру в одной из специализированных лабораторий). Для постепен-

ной адаптации дафний рекомендуется смешивать 1 часть воды из природного водного объекта или воды, в которой рачки предварительно культивировались, с тремя частями лабораторной воды. Культуральная среда обновляется полностью или частично 1 раз в неделю.

Для культивирования дафний используют отстаивную водопроводную воду или воду из незагрязняемых водных объектов. Водопроводной водой можно пользоваться после предварительного удаления из нее остаточного хлора путем длительного продувания воздуха с помощью микрокомпрессора (около 14 дней). На дно аквариума насыпают хорошо промытый песок, сажают 5–10 растений.

В качестве основного корма для дафний могут быть использованы зеленые протококковые водоросли и в качестве дополнительного – пекарские дрожжи только для маточных культур. Дрожжами дафний можно подкармливать 1–2 раза в неделю из расчета 3 мл 1%-й суспензии на 1 л среды. Взвесь дрожжей хранится в холодильнике не более трех дней.

Для культивирования рачков удобны небольшие стеклянные кристаллизаторы объемом 1–3 л, плотность посадки 20–25 особей на 1 л. Появившуюся молодь в необходимом количестве отсаживают в следующие сосуды от поколения к поколению. Когда вновь народившиеся рачки начинают размножаться, материнские особи удаляют. Каждое поколение маркируют и ставят дату рождения. Одновременно в лаборатории содержат культуры двух поколений дафний.

Для токсикологических исследований используют дафний, начиная с третьего поколения, полученного в лаборатории. Перед проведением эксперимента оценивают устойчивость рачков к бихромату калия.

Основная цель острых (краткосрочных) опытов на дафниях – установить концентрации исследуемого вещества, которые в водных объектах могут вызвать массовую гибель наиболее продуктивной части зоопланктона – фильтраторов. Кроме того, устанавливается концентрация, начиная с которой следует проводить хронические (длительные) эксперименты.

Оборудование и материалы

1. Люминостаг.
2. Кристаллизаторы объемом 1 л.
3. Стаканы объемом 0,5 л.
4. Термометр.
5. Воронка.
6. Медицинские пипетки.
7. Стеклянные палочки.
8. Фильтровальная бумага.

Ход анализа.

Острый опыт.

В экспериментальные стеклянные стаканы залить по 100 мл исследуемых растворов в концентрациях 0,1 ПДК, ПДК, 10 ПДК. В каждый стакан с помощью медицинской пипетки с круглым носиком помещают по 10 односуточных дафний. Повторность опытов трехкратная. Наблюдения за выживаемостью дафний проводят непрерывно в течение первого часа воздействия. Затем опытные стаканы помещают в люминостат при температуре 22–24 °С, световой день 10–12 ч. В ходе острых опытов рачков не кормят. Продолжительность острого опыта 48 ч.

По окончании опыта подсчитывают количество живых и погибших дафний в каждом стакане. Гибель рачков отмечают по наступлению неподвижности (иммобилизации), при которой дафнии лежат на дне стакана, плавательные движения отсутствуют и не возобновляются при покачивании стакана. Опыт считается достоверным, если гибель контрольных дафний не превышает 10 %.

Данные по выживаемости рачков записывают в табл. 3.15.

Таблица 3.15

Результаты биотестирования токсичности воды с помощью Дафния magna в ходе острого опыта

Исследуемое вещество, концентрация мг/л	Повторности			Удельная токсичность, %
	1	2	3	

Удельная токсичность (U_T) рассчитывается по формуле (3.6)

$$U_T = \frac{K - O}{K} \cdot 100\% , \quad (3.6)$$

где O – опытные варианты; K – контрольные варианты.

По результатам острых опытов определяют концентрацию вещества, вызывающую гибель 50 % подопытных организмов за 48 ч экспозиции. Для этого в системе координат по оси ординат откладывают величину выживаемости (гибели) дафний в процентах за заданный срок опытов, а по оси абсцисс – логарифм концентрации. Точка пересечения горизонтальной прямой, соответствующей 50 % выживаемости рачков, с экспериментальной линией определит искомую концентрацию.

Проанализировав результаты, сделать выводы о наличии острой токсичности по концентрациям, вызывающим достоверное снижение выживаемости рачков в сравнении с контрольными. Определить максимальную концентрацию, при которой острая токсичность не проявляется.

Хронический эксперимент

Для хронических опытов подбирают концентрации вещества, которые не вызвали гибели дафний в остром эксперименте. И проводят еще 2–3 их разведения.

В опытные стаканы заливают испытуемые растворы по 250 мл и помещают в каждых по 5 односуточных дафний. Общие условия (температура, освещенность) проведения хронических опытов те же, что и в острых опытах. Рачков ежедневно кормят хлореллой. Опыт продолжают 2–3 недели, до появления 3 помета молоди у исходных особей. Молодь подсчитывают и удаляют первые три дня каждые сутки, а затем 1 раз в двое суток.

В ходе наблюдений оценивают выживаемость, рост, плодовитость и качество потомства. При наблюдении за размножением рачков учитывают время рождения первого помета, количество народившейся молоди в каждом помете. Необходимо учитывать также патологические отклонения: количественный учет мертворожденной и уродливой молоди.

По окончании опытов для каждого поколения подсчитывают средние значения выживаемости, плодовитости в пересчете на одну самку за 4 помета, количество патологических отклонений в процентах от реальной плодовитости. Результаты опытов в растворах вещества сравнивают с контролем (водная среда без исследуемого вещества).

Достоверность получаемых результатов в хроническом опыте можно считать надежной, если соблюдены следующие условия:

- а) гибель контрольных дафний на конец опыта не превышает 10 %;
- б) 4 помета у контрольных рачков получены за срок не более 30 суток;
- в) количество молоди на 1 самку за 4 помета в контроле - не менее 35 штук.

На основании результатов исследований с дафниями в остром и хроническом опыте делают вывод об уровне токсичности исследуемых веществ.

При этом необходимо иметь в виду, что патологические отклонения, проявляющиеся при исследованиях токсичности вещества, могут указывать на характер действия испытываемого соединения:

а) если у рачков замедлены процессы созревания, снижена численность пометов и количество образованных яйцеклеток, то вещество обладает гонадотропным действием;

б) если у дафний опытной серии величина потенциальной плодовитости равна или превышает контроль, а реальная плодовитость значительно снижена за счет абортивных яиц, эмбрионов и мертворожденной уродливой молоди, то вещество обладает эмбриотропным действием;

в) если у дафний отмечено появление уродливой молоди, которая выживает в исследуемых растворах 3 и более суток, то предполагается наличие мутагенности и необходимо проведение специальных уточняющих экспериментов.

Лабораторная работа № 64. Определение токсичности воды и водных растворов с помощью цериодафний (*Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg)

Работа изложена в Приказе Федерального агентства по рыболовству от 4 августа 2009 г. № 695 «Об утверждении Методических указаний по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения» [Постановление..., 1992] и адаптирована в эколого-аналитической лаборатории факультета географии, геэкологии и туризма Воронежского университета.

Цериодафнии – рачки вида *Ceriodaphnia affinis* Lilljeborg (класс Crustacea, отряд Cladocera, семейство Daphnidae) обитают в пресноводных водных объектах Европы, Северной Африки, Азии, Северной Америки. Этот вид населяет водные объекты с замедленным течением – неглубокие озера, реки, водохранилища. Цериодафния имеет более мелкие размеры, чем дафнии, половозрелые самки 1,5 мм, самцы – 0,8 мм, что позволяет в опытах манипулировать с меньшими объемами воды и более компактными емкостями. Биологический цикл развития от рождения до половозрелости у цериодафнии вдвое короче, чем у дафний, при оптимальных условиях развития. Так, при температуре 25 °С созревание наступает на 2–3-е сутки от рождения, время первого помета – на 3–4-е сутки, а за срок 7–8 суток у рачков получают 3 помета.

Численность молоди у рачков в первом помете невелика – по 2–6 особей, а начиная со второго помета – от 6 до 20 особей на самку. В лабораторных условиях самцы появляются при недостаточном освещении, снижении температуры, концентрации растворенного кислорода, голодании.

Цериодафния более чувствительна к кислородному фактору, чем дафния. Вследствие этого цериодафнии более чувствительны к органическому загрязнению и веществам, снижающим концентрацию растворенного кислорода в среде.

Требования к помещению, где содержат цериодафний, такие же, как и с дафниями. Для культивирования цериодафний используют дехлорированную, отстоянную воду.

В качестве корма для цериодафний используют хлореллу и пекарские дрожжи. Для культивирования цериодафний удобны небольшие кристаллизаторы или стаканы емкостью 0,5–1 л, плотность посадки рачков – из расчета не менее 20 мл объема среды на одну особь. Кормление проводят ежедневно водорослями, дрожжи дают не чаще одного раза в неделю. Культуральная среда обновляется полностью один раз в неделю.

Культуру цериодафний выращивают в климатостате, люминостате или боксе при оптимальных условиях содержания: температура 25 °С, освещенность – 400 – 600 лк, продолжительность светового дня – 10–12 ч.

Оборудование и материалы

1. Люминостат.
2. Кристаллизаторы объемом 1 л.
3. Стаканы объемом 0,5 л.
4. Термометр.
5. Воронка.
6. Медицинские пипетки.
7. Стеклянные палочки.
8. Фильтровальная бумага.

Ход анализа

Острый опыт

В экспериментальные стеклянные стаканы емкостью 50 мл или пробирки наливают по 20 мл испытуемых растворов и сажают по 4 односущных рачка. При постановке острых опытов используют на каждую концентрацию не менее 20 рачков, распределяя их не менее чем на 4 повторности.

Условия проведения опытов: температура 25 °С, световой день – 10–12 ч, разбавляющая контрольная вода должна отвечать всем требованиям, перечисленным выше. В ходе острых опытов рачков не кормят.

В остром опыте показателем токсичности среды является выживаемость цериодафний. Наблюдения за выживаемостью ведут в том же режиме, что и в опытах с дафниями и полученные данные записывают в табл. 3.16.

Таблица 3.16

Результаты биотестирования токсичности воды с помощью цериодафний в остром опыте

Исследуемое вещество, концентрация мг/л	Повторности			Удельная токсичность, %
	1	2	3	

Удельная токсичность (Ут) рассчитывается по формуле (3.6).

Через 48 часов опыт прекращают и определяют действующие концентрации вещества по наличию статистически достоверного снижения величины выживаемости цериодафний в опыте по сравнению с контролем.

Хронический опыт

Хронические опыты на серии трех поколений с цериодафниями, так же как и с дафниями, служат для оценки действия малых концентраций токсиканта на выживаемость, плодовитость и качество потомства в поколениях.

Концентрации веществ для хронического опыта подбирают, так же как и для опытов с дафниями (см. работу № 63).

В опытные стаканы заливают по 40 мл испытуемых растворов и контрольной воды и помещают в них по 4 экземпляра одновозрастных цериодафний, повторность трехкратная. Рачков ежедневно кормят зелеными водорослями.

Опыт продолжается до появления четырех пометов у контрольных рачков, что составляет около 10 суток.

Схема постановки опытов на поколениях цериодафний аналогична постановке опытов с дафниями.

В хроническом опыте ведут учет выживаемости и размножения цериодафний. При наблюдении учитывают время появления первого помета, количество молоди в пометах и количество патологических отклонений.

По окончании опытов с каждым поколением цериодафний подсчитывают среднее значение по суткам выживаемости, плодовитости в пересчете на одну самку за 4 помета, процент патологических отклонений от величины реальной плодовитости. Результаты опытов сравнивают с контролем.

Лабораторная работа № 65. Биотестирование токсичности воды и водных вытяжек с использованием рыб (на примере гуппи (*Poecilia reticulata* Peters))

Работа изложена в Приказе Федерального агентства по рыболовству от 4 августа 2009 г. № 695 «Об утверждении Методических указаний по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения» [Постановление..., 1992] и адаптирована в эколого-аналитической лаборатории факультета географии, геэкологии и туризма Воронежского университета.

При кратковременном исследовании (острые опыты до 96 ч) определяется острое токсическое действие тестируемых растворов веществ на рыб по показателю «выживаемость». Показатель токсичности вещества – снижение выживаемости рыб на 50 % за период от 24 до 96 ч.

При длительном исследовании (хронические опыты до 30 суток) устанавливается достоверное по сравнению с контролем изменение поведенческих реакций, снижение выживаемости, изменение гематологических, патоморфологических и других показателей жизнедеятельности организмов.

Наиболее удобным и весьма чувствительным тест-объектом является хорошо изученная в токсикологическом плане культивируемая в искусственных условиях морская культура – гуппи. Исследования на ее особях в возрасте 1-2 суток в остром эксперименте (96 ч) условно можно рассматривать как ответную реакцию личинок рыб на токсическое воздействие. Высокая чувствительность гуппи сохраняется на протяжении первых 4 суток, затем их чувствительность к химическим веществам несколько снижается, но остается на уровне для достоверных отклонений. Кроме того, эксперименты, проведенные на половозрелых особях морской лабораторной культуры гуппи, позволяют не только всесторонне оценить на достоверно однородном материале воздействие химических веществ на старшие возрастные группы рыб, но и использовать более широкий, чем при работе с природными (дикими) популяциями, спектр исследуемых параметров, в частности, показатели реальной плодовитости и жизнестойкости выметанной молоди, характеризующие основополагающий и наиболее чувствительный репродуктивный период.

Гуппи (*Poecilia reticulata* Peters) – широко распространенная аквариумная живородящая рыбка. В природе встречается в соленых и пресных водах. Выдерживает значительные колебания солености.

Данный тест-объект широко применяется в международных и национальных стандартах при токсикологических исследованиях морей и внутренних морских вод.

Гуппи – мелкие рыбы с ярко выраженным половым диморфизмом. Самцы (3–4 см) обычно мельче самок и окрашены в более яркие цвета. В их окраске преобладают серовато-коричневые тона с очень яркими красными, голубыми, зелеными и черными вкраплениями и точками. Самки достигают 6 см в длину, обычно желтовато-зеленые.

Гуппи выдерживают многократное близкородственное скрещивание, что облегчает получение чистых линий. Для содержания (культивирования) гуппи используют термостатированные аквариумы, обеспечивающие плотность посадки тест-объектов из расчета для молоди 1 экземпляр на 1-2 л, и для половозрелых рыб – 1 экземпляр на 5 л воды. Аквариум размещают в помещении, не содержащем токсических паров или газов, заполняют отстоянной и проаэрированной в течение 7 суток водой, при температуре 25–27 °С. Воду в аквариуме аэрируют с помощью микрокомпрессоров. Каждые три дня часть воды (1/4–1/5 часть) заменяют свежей. Ил со дна аквариума убирают регулярно при помощи сифона.

Кроме рыб в аквариум помещают зеленую водоросль энтероморфу или элодею, которые при хорошем освещении хорошо развиваются и служат для гуппи укрытием и кормом.

Кормят гуппи 1–2 раза в сутки, производителей чаще, сухим (дафнии, циклопы) или живым кормом (мотыль, трубочник, дафнии, циклопы). Корм вносят в таком количестве, чтобы рыбы съедали его без остатка за 3–5 минут, так как излишки приводят к ухудшению качества воды в аквариуме.

Для получения молоди отбирают производителей в возрасте от 1–2 лет (продолжительность жизни гуппи в аквариумных условиях 3–3,5 года).

Самку готовят к вымету, помещая в отдельную термостатированную нерестовую емкость объемом не менее 4 л, заполненную водопроводной водой температурой 25 °С и большим количеством мелколистных растений. Готовность самки к вымету мальков определяют по наличию хорошо заметного темного пятна перед анальным плавником. При этом форма брюшка приближается к прямоугольной, и оно становится намного шире спины. После окончания вымета самок изолируют, так как они поедают потомство.

Мальки рождаются сформированными. Лучшим кормом для них является «пыль», состоящая из инфузорий, коловраток, молоди ветвистоусых рачков и науплиусов веслоногих рачков. При отсутствии «пыли» молодь гуппи кормят перетертыми сухими дафниями или любым другим измельченным сухим кормом. На 100 мальков вносят не более 1 г корма. По мере роста в рацион рыб вводят измельченный трубочник, мотыль, коретку и другой живой корм. Однодневных и двухнедельных мальков кормят до 5 раз в сутки, более взрослых 2–3 раза. Вносимые порции корма должны быть небольшими и поедаться рыбами в течение 3–5 минут.

Мальков сортируют по размерам и постепенно переводят из нерестовых аквариумов в выростные. Мальки становятся половозрелыми в 4–6 месяцев.

При необходимости для изучения влияния тестируемого вещества на реальную плодовитость гуппи предварительно проводится подготовка тест-объекта.

Полученных от производителей мальков в течение 1 месяца выращивают в просторном аквариуме (на 1 малька – 1 л воды). С появлением первых признаков половых различий, самцов отделяют от самок и продолжают выращивать в отдельных аквариумах. При температуре 25–27 °С через 6 месяцев все рыбы становятся половозрелыми. С этого момента их можно использовать в опыте.

За три дня до начала постановки опытов самцов и самок помещают в общий аквариум для спаривания. Соотношение самцов и самок 2:1. Однажды оплодотворенная самка может приносить приплод несколько раз.

Оборудование и материалы

1. Емкости на 10, 20, 40, 60, 100 л.

2. Микроскоп биологический, обеспечивающий увеличение в 100-200 раз.

3. Электромешалка.

4. Кюветы разных размеров.

5. Микрокомпрессоры.

6. Аквариумные водонагреватели с датчиками.

7. Пинцеты.

8. Ножницы.

9. Препаровальные иглы.

10. Линейки.

11. Колбы или стаканы емкостью от 1 до 3 л.

12. Мерные пипетки.

13. Стеклянные трубки и палочки.

14. Резиновые шланги разного диаметра и длины, груши.

15. Карандаши по стеклу.

Ход анализа

Острый опыт

В аквариум наливают по 10 л контрольной или тестируемой воды. Повторность трехкратная. В каждый аквариум помещают по 10 рыб. В опыте используют группы возрастом 1 сутки. Исследования проводят при освещении рассеянным светом, с естественной сменой дня и ночи, концентрацией кислорода в воде не менее 4 % и температурой воды 25 °С.

Воду в контрольных и опытных аквариумах аэрируют с помощью микрокомпрессоров. Ежедневно в каждом аквариуме подсчитывают количество выживших рыб и удаляют погибших. Погибшими считают рыб, не подающих признаков движения или дыхания в течение 5 минут после прикосновения к ним стеклянной палочкой.

Для определения наличия острого токсического действия раствора вещества опыт проводят в течение 96 ч.

По истечении времени опыта подсчитывают общее количество выживших рыб во всех вариантах опыта. Гибель рыбы в контроле не должна превышать 10 %. Результаты записывают в табл. 3.17.

Таблица 3.17

Результаты биотестирования токсичности воды с помощью группы в остром опыте

Исследуемое вещество, концентрация мг/л	Повторности			Удельная токсичность, %
	1	2	3	

Удельная токсичность (Ут) рассчитывается по формуле (3.6).

Хронический опыт

Постановка опыта аналогична постановке острого эксперимента, но для тестирования выбирают концентрации, которые не проявили

острого токсического эффекта. Из них приготавливают несколько разведений, которые используются в хроническом эксперименте.

Для определения наличия хронического токсического действия раствора вещества опыт проводят в течение 30 суток. При длительном исследовании смену воды в контрольных и опытных аквариумах проводят через 2 суток, один-два раза в сутки рыб кормят.

При оценке влияния тестируемого вещества на реальную плодовитость гуппи в эксперименте используют предварительно оплодотворенных самок.

Таблица 3.18

Результаты биотестирования токсичности воды с помощью гуппи в хроническом опыте

Исследуемое вещество концентрация мг/л	Выживаемость самок			Реальная плодовитость			Мертворожденная молодь			Удельная токсичность
	1	2	3	1	2	3	1	2	3	

В каждый аквариум помещают по шесть самок. Опыт проводят в трех повторностях в течение 30 суток. За это время при температуре 25–27 °С все самки рожают мальков. В процессе эксперимента рыб кормят живым кормом. Полученных мальков отсаживают в отдельную емкость с той же концентрацией исследуемого раствора, чтобы исключить поедание самками новорожденной молоди. За новорожденными мальками продолжают наблюдение, чтобы оценить их жизнеспособность.

Показателем токсичности тестируемого раствора вещества служат выживаемость самок, реальная плодовитость (количество жизнеспособной молоди), количество мертворожденной молоди по сравнению с контролем. Полученные результаты занести в табл. 3.18 и проанализировать.

Рассчитать удельную токсичность по каждому показателю. Сделать выводы.

Лабораторная работа № 66. Оценка ферментативной активности почв

Разнообразные ферменты накапливаются в почве в результате жизнедеятельности почвенных микроорганизмов, мезофауны и корневой системы растений. Они участвуют в важных биохимических процессах: синтезе и распаде гумуса, гидролизе органических соединений, остатков высших растений и микроорганизмов и переводе их в доступное для

усвоения состояние, а также в окислительно-восстановительных реакциях [Фонштейн Л.М., 2004].

Методы энзимологии и показатели ферментативной активности почв широко применяются при оценке плодородия почв, характеристике почвенных типов, окультуренности почвы, при оценке эффективности тех или иных агроприемов и удобрений и т. д.

Почвенно-энзимологические методы позволяют определять не количественное содержание ферментов в почве, а активность ферментов, находящихся преимущественно в адсорбированном состоянии на поверхности почвенных коллоидов и частично в почвенном растворе, что сводится к установлению каталитического действия почвенной пробы на процессы превращения соответствующих органических и минеральных соединений, вносимых в почву.

Определение активности ферментов основано на учете количества переработанного в процессе реакции субстрата или образующегося продукта реакции в оптимальных условиях среды. Для количественного определения конечных продуктов реакции применяют различные химические, фотометрические, колориметрические, поляриметрические и другие способы. Для качественной характеристики ферментов широко используют хроматографические методы, которые дают хорошие результаты при гидролизе.

Сущность методов определения активности ферментов почвы заключается в следующем: навеску почвы насыщают антисептиком (толуолом), добавляют буферный раствор с рН, оптимальным для действия данного фермента, и определенное количество субстрата. Реакционную смесь при температуре 30–37 °С выдерживают в термостате в течение определенного времени и проводят количественный учет или качественную идентификацию продуктов реакции. Активность фермента выражают в количествах переработанного субстрата или образующегося продукта реакции в течение определенного промежутка времени и рассчитывают на единицу веса почвы или гумуса [Фонштейн Л.М., 2004].

Для надежного определения почвенных ферментов необходимо предварительно провести инактивацию деятельности микроорганизмов в почвенных пробах. Основное требование к инактиваторам: они не должны разрушать клетки микроорганизмов (плазмолиз) и изменять проницаемость клеточных оболочек. Эффективная инактивация жизнедеятельности микроорганизмов предотвращает поступление в почву дополнительных количеств ферментов и утилизацию субстрата и продуктов реакции микроорганизмами, которые могут исказить значение показателей ферментативной активности исследуемой почвы.

На скорость ферментативных реакций влияет множество факторов. К ним относятся температура инкубации, концентрация водородных

ионов, состав буферных растворов, концентрация субстрата, навеска почвы, активаторы и ингибиторы и т.д.

При разработке почвенно-энзимологических методов определяют оптимальные значения этих констант, которые для всех групп и даже отдельных ферментов различны.

Измерение активности ферментов в почве производят в определенных количествах почвенной пробы. С увеличением навески почвы скорость ферментативной реакции линейно возрастает. Концентрацию субстрата выбирают с расчетом, чтобы скорость ферментативной реакции была постоянной в течение всего периода экспозиции. Количество молекул субстрата должно хватить для насыщения всех молекул ферментов, содержащихся в данной навеске почвы, до конца реакции. Для этого требуется некоторый избыток субстрата, однако большой избыток снижает скорость реакции. Оптимальную концентрацию субстрата устанавливают опытным путем для определенных величин навески почвы. Существенным требованием к субстратам в почвенно-энзимологических исследованиях является хорошая их растворимость. Нерастворимые или слаборастворимые субстраты трудно вступают во взаимодействие с ферментами [Фонштейн Л.М., 2004].

Скорость ферментативных реакций зависит от *pH среды*. Максимальная активность ферментов проявляется лишь в узком интервале значений pH, который называют оптимумом pH действия данного фермента. Как уменьшение, так и увеличение pH от оптимального значения приводит к снижению активности ферментов. При определении ферментативной активности почв для обеспечения заданной pH используют буферные растворы ферментов, соответствующие оптимуму действия данного фермента.

Скорость ферментативных зависит от *температуры*. По мере повышения температуры до определенного значения скорость реакции возрастает, при высоких температурах ферменты денатурируют и теряют свою активность. Низкие температуры снижают ферментативную активность. Максимальную активность почвенных ферментов обнаруживают в пределах температур от 45 до 60 °C. Однако активность почвенных ферментов не определяют при оптимальных значениях температуры, так как они сильно отличаются от естественной температуры почвы за вегетационный период. Согласно рекомендациям Международного союза по номенклатуре и классификации необходимо придерживаться стандартной температуры 30 °C.

Ферментативную активность почвы необходимо определять при начальной скорости реакции и сохранять ее постоянной в течение всего времени экспозиции. Это связано с тем, что скорость ферментативной реакции может падать в результате следующих причин:

- 1) уменьшения концентрации субстрата ниже насыщающей, поскольку он расходуется в процессе реакции и может адсорбироваться почвой;
- 2) частичного разрушения самих ферментов во время реакции;
- 3) влияния образующихся продуктов реакции.

Необходимо время инкубации сократить до минимума, чтобы исключить отрицательный эффект вышеуказанных факторов и возможность роста колоний некоторых видов микроорганизмов.

Почвенные ферменты находятся в адсорбированном состоянии на поверхности почвенных коллоидов. Постоянный приток субстрата к ферментам и удаление продуктов реакции из зоны действия достигаются периодическим взбалтыванием реакционной смеси в процессе инкубации.

Одним из важных требований к методам почвенной энзимологии является полная экстракция из почвы продуктов ферментативной реакции, по количеству которых измеряют активность фермента. В качестве экстрагентов используют соответствующие буферные растворы и различные растворители [Фонштейн Л.М., 2004].

Контрольные пробы. В почве всегда присутствуют вещества, аналогичные продуктам распада большинства органических соединений, применяемых в качестве субстратов при почвенно-энзимологических исследованиях (глюкоза, аминокислоты, фосфор, аммоний и др.). Поэтому для корректировки результатов определения активности ферментов ставят следующие контрольные опыты.

1. *Контроль на неферментативное превращение субстрата (контроль без фермента)* строго обязателен, особенно при определении активности окислительно-восстановительных ферментов, потому что в почве всегда присутствуют переменнo-валентные катионы (Cu, Mn, Mo и др.), способные переносить электроны. Обычно неферментативный гидролитический распад субстратов в почве незначителен или отсутствует. Параллельные навески почв в реакционных сосудах стерилизуют сухим жаром при 180 °С в течение двух-трех часов или автоклавируют при 2 атм в течение 1 часа несколько раз. Однако такие контроли нецелесообразны в тех случаях, когда продукты ферментативных реакций определяют фотометрическим способом или титрованием. Нагревание почвы при высокой температуре сильно изменяет органическое вещество, которое растворяется и окрашивает фильтраты. Вместо жесткой термической инактивации ферментов часто используют специфические химические ингибиторы – соли тяжелых металлов, цианиды и др. В стерилизованную сухим жаром или обработанную ингибитором почву вносят антисептик, буферный раствор, субстрат и дальше проводятся те же операции, что и с опытными пробами. В опытные сосуды сразу после прекращения инкубации добавляют такое же количество ингибитора.

2. *Контроль на почвенные вещества, учитываемые вместе с продуктами ферментативной реакции (контроль без субстрата).* Нестерильную почву обрабатывают толуолом, вносят буфер и соответствующий объем воды вместо субстрата. Дальнейшие операции аналогичны с опытными.

3. *Контроль на чистоту реактивов и субстрата и на спонтанный распад субстрата (контроль без почвы).* В реакционные сосуды наливают указанное в соответствующей методике количество субстрата, буфера и антисептика и контрольную смесь обрабатывают как опытную. Достаточно поставить один контроль для данной серии реактивов и субстрата.

При определении активности гидролитических ферментов можно ограничиться постановкой контроля без субстрата и контроля без почвы. Однако предварительно следует убедиться в том, что неферментативный гидролиз субстрата в почве не происходит, для чего ставят несколько контролей без фермента. При определении активности окислительно-восстановительных ферментов достаточен контроль без фермента, так как он включает в себя контроль без субстрата и контроль без почвы. При расчете ферментативной активности сумму показателей контрольных проб вычитают из показателя опытных вариантов, и разница соответствует количеству продукта, образовавшегося в результате ферментативного превращения субстрата; при пересчете на единицу веса почвы продукт ферментативной реакции характеризует ферментативную активность почвы [Фонштейн Л.М., 2004].

Наиболее широко используемая единица измерения – количество продуктов ферментативного превращения субстрата (мкг, мг, мл, см³, мкМ и др.) на единицу веса почвы за единицу времени при 30 °С. В то же время, в соответствии с рекомендацией Международного биохимического союза по ферментам (1962), за единицу измерения принята стандартная ферментная единица (Е). Одна стандартная единица соответствует такому количеству фермента, которое при заданных условиях катализирует превращение 1 мкМ субстрата в 1 мин. В условиях почвенных ферментов это количество рассчитывают на единицу веса почвы (например, на 1 г почвы).

Отбор почвенных образцов и подготовка к анализам

Почвенные образцы нужно отбирать тщательно, так как все последующие результаты будут определяться тем, насколько правильно они были отобраны.

Предварительно делают подробные записи в дневнике с указанием района исследований, описанием выбранного места закладки разреза, участка или опытного поля (рельеф, растительность, предшествующие

культуры, агротехника, внесение удобрений) и подробной характеристикой почвы. Обязательно записывают время взятия образца.

Методика отбора почвенных образцов определяется поставленными перед исследователем задачами. При изучении ферментативной активности под различной растительностью образцы почвы берут из зоны ризосферы и вне ризосферы по фазам развития растений. Следует учесть, что в целинных почвах и под многолетними травами максимальную ферментативную активность обнаруживают в слое 0–5–7 см, причем она сильно уменьшается в более глубоких слоях. Поэтому этот слой целесообразно брать отдельно.

При изучении пахотных почв образцы берут на всю глубину пахотного слоя, предварительно удалив возможно загрязненный самый верхний слой почвы. Пахотный горизонт можно расчленить на 2–3 слоя. В летние месяцы слой 0–5 см может сильно иссушаться, и активность в нем снижается. В условиях нормального увлажнения и тепла этот слой характеризуется максимальной активностью. Во всех случаях берут смешанные пробы. Для микробиологической характеристики опытных участков и определения ферментативной активности на каждую сотковую делянку рекомендуют брать пять образцов. Каждый образец составляют из трех смешанных проб. Если делянка меньше 100 м², то достаточно брать три образца по диагонали, составленные из трех смешанных проб. Каждый образец анализируют отдельно.

Для сравнительной характеристики различных типов почв по ферментативной активности можно ограничиваться одноразовым определением, но образцы должны быть отобраны в одни и те же сроки, желательно до начала вегетации (весной) или в конце вегетации (осенью), в целях исключения влияния на ферментативную активность живых корней растений. Образцы почв, собранные для исследований эколого-географического характера, практически невозможно анализировать в свежем состоянии, поэтому их сразу же высушивают (обязательно в тени и как можно быстрее). Почву следует часто перемешивать. Условия высушивания и хранения почвенных образцов должны быть одинаковыми. Высушенные или свежие образцы до исследования хранят на холоде, при этом их активность снижается незначительно. Для анализов почву тщательно очищают от корней и других растительных остатков, камней и прочих включений. Высушенные пробы растирают и просеивают через сито с диаметром отверстий 1–2 мм.

Каталаза катализирует реакцию разложения перекиси водорода на воду и молекулярный кислород:



Перекись водорода образуется в процессе дыхания живых организмов и в результате различных биохимических реакций окисления ор-

ганических веществ. Роль каталазы в живом организме и, по-видимому, в почве заключается в том, что она разрушает ядовитую для организмов перекись водорода. Каталаза широко представлена в клетках живых организмов, в том числе микроорганизмов и растений. Высокую каталазную активность проявляют также почвы.

Методы определения каталазной активности почвы основаны на измерении скорости распада перекиси водорода при взаимодействии ее с почвой по объему выделяющегося кислорода (газометрические методы) или по количеству неразложившейся перекиси, которое определяют перманганатометрическим титрованием или колориметрическим способом с образованием окрашенных комплексов.

Титрометрический метод определения каталазной активности ***Оборудование и материалы***

1. 0,3%-я H_2O_2 (30%-ю H_2O_2 разбавляют водой в соотношении 1 : 100).
2. 0,1 н KMnO_4 , титр которого устанавливают оксалатом натрия.
3. 3 н раствор H_2SO_4 .
4. Конические колбы на 125 мл.
5. Ротатор.
6. Бюретки.

Данный метод определения каталазной активности почвы основан на учете количества непрореагировавшей части перекиси водорода, внесенной в почву. Разность между количествами внесенной в реакционную среду перекиси и обнаруженной после взаимодействия с почвенными ферментами равняется количеству расщепленной перекиси и характеризует активность каталазного действия почвы.

Метод Джонсона и Темпле

Ход анализа

В коническую колбу емкостью 125 мл помещают 2 г почвы, затем приливают 40 мл дистиллированной воды и 5 мл 0,3%-й перекиси водорода. Колбу устанавливают на ротатор и взбалтывают суспензию в течение 20 мин. Нерасщепленную часть перекиси стабилизируют добавлением 5 мл 3 н серной кислоты и содержимое колб фильтруют через плотный фильтр. Затем 25 мл фильтрата титруют 0,1 н марганцевокислым калием до слабо-розовой окраски. Начальную концентрацию использованной перекиси корректируют титрованием перманганатом в кислой среде. Для этого 5 мл 0,3%-й перекиси смешивают с 40 мл воды и 5 мл 3 н серной кислоты, 25 мл этой смеси титруют 0,1 н марганцевокислым калием. Из количества перманганата, израсходованного на титрование исходной перекиси (*A*), вычитают количество перманганата, израсходованного для титрования почвенного фильтра (*B*). Эта разница с учетом поправки к титру перманганата (*T*) отражает каталазную активность почвы, опреде-

ляемую по формуле: $(A - B) T$. Каталазную активность выражают в миллилитрах 0,1 н KMnO_4 на 1 г сухой почвы за 20 мин.

Пероксидаза

Пероксидазы осуществляют окисление органических веществ почв (фенолов, аминов, некоторых гетероциклических соединений) за счет кислорода перекиси водорода и других органических перекисей, образующихся в почве в результате жизнедеятельности микроорганизмов. Эти ферменты играют важную роль в процессе образования гумуса, а также являются неспецифическими индикаторами химического загрязнения почв.

Методы определения пероксидазной активности почвы основаны на учете количества продуктов окисления полифенолов, используемых в качестве субстратов фермента, путем фотометрических измерений интенсивности их окраски в случае образования окрашенных соединений (например, пурпургаллина) или методом титрования.

Оборудование и материалы

1. 0,02 М раствор пирокатехина (о-диокси-бензол).
2. 0,4%-й раствор H_2O_2 .
3. 0,1%-й раствор аскорбиновой кислоты.
4. Ацетатный буфер (рН 4,7).
- 5 0,01 н титрованный раствор кристаллического иода готовят из фиксаналов.
6. 10%-й раствор H_3PO_4
7. Бюретки.
8. Колбы на 50 мл.
9. Пробирки в штативах.

Метод К.А. Козлова

Ход анализа

5 г почвы заливают 26 мл ацетатного буфера (рН 4,7) и после тщательного перемешивания оставляют на 2 часа, затем суспензию фильтруют через бумажный фильтр.

К 1 мл прозрачного фильтрата в пробирках добавляют 1 мл 0,4%-го раствора перекиси водорода, 2 мл 0,1%-го раствора аскорбиновой кислоты и 1 мл 0,02 М раствора пирокатехина. Смесь тщательно перемешивают и инкубируют в водяной бане при 20 °С 2 мин, после чего инактивируют добавлением 1 мл 10%-й H_3PO_4 . Затем весь объем смеси титруют 0,01 н раствором йода до появления желтой окраски, устойчивой в течение 10–15 сек. Контрольное определение проводят с прокипяченной почвенной вытяжкой.

Активность пероксидазы выражают в миллилитрах раствора 0,01 н. иода, израсходованного на титрование фильтрата, соответствующего 1 г почвы, т.е. экспериментальные результаты умножают на 5.

3.4. Микробиологические методы контроля качества среды

Микроорганизмы – естественные и существенные компоненты экосистем. К ним относятся вирусы, простейшие, грибы и одноклеточные. Однако в условиях антропогенного воздействия на естественные экосистемы состав микрофлоры может изменяться, что приводит к неблагоприятным последствиям для здоровья человека.

Оценка содержания различных микроорганизмов наиболее значима в водной среде и почве. Именно наличие патогенных микроорганизмов в воде и почве создает реальную угрозу попадания возбудителей инфекционных заболеваний в организм человека.

Вода является естественной средой обитания многих микроорганизмов, основная масса которых поступает из почвы. Количество микроорганизмов в воде напрямую зависит от наличия в ней питательных веществ. Наиболее чистыми являются воды глубоких артезианских скважин, а также родниковые воды. Высокие уровни микробного загрязнения характерны для открытых водоемов. Наибольшее количество микроорганизмов в них находится в поверхностных слоях (в слое 10 см от поверхности воды) прибрежных зон. С удалением от берега и увеличением глубины их количество уменьшается.

Реки в районах городов часто являются естественными местами сброса хозяйственных и канализационных стоков, поэтому в черте населенных пунктов резко увеличивается уровень микробного загрязнения. Патогенные микроорганизмы попадают в реки и водоемы со сточными водами. Возбудители таких кишечных инфекций, как брюшной тиф, паратифы, дизентерия, холера, могут сохраняться в воде длительное время. В этом случае вода становится источником инфекционных заболеваний.

Однако показатель микробного числа лишь условно позволяет оценить влияние содержащихся в водах микроорганизмов на здоровье человека. Для природных вод характерно большое видовое разнообразие, многие виды микроорганизмов являются нормой для водной экосистемы. Часто такие бактерии нейтральны по отношению к здоровью человека. Более объективными и актуальными являются показатели, позволяющие количественно оценить содержание патогенных микроорганизмов, к числу которых относят группу бактерий кишечной палочки.

Кишечная палочка (*Escherichia Coli*) является палочковидной термофильной бактерией, принадлежащей к группе факультативных анаэробов, то есть живет и размножается в основном в условиях отсутствия прямого кислорода. Кишечная палочка имеет множество штаммов, большинство из которых принадлежит к естественной микрофлоре кишечника и помогает предотвращать развитие вредоносных микроорганизмов и синтезировать витамин К.

Кишечная палочка относится к группе энтеробактерий, т.е. кишечных бактерий, поэтому ее присутствие в природных водах или грунтах свидетельствует о фекальном загрязнении водоема. Они широко распространены в природе и часто обнаруживаются в воде, почве, пищевых продуктах, на поверхности предметов.

Заражение патогенными штаммами кишечной палочки человека происходит преимущественно фекально-оральным путем. Заражению способствует нарушение правил гигиены приготовления пищи, употребление грязных фруктов и овощей, использование для полива загрязненной или сточной воды, использование загрязненной воды в питьевых целях. Некоторые патогенные виды кишечной палочки способны стать причиной серьезных отравлений, кишечного дисбактериоза и колибактериоза. Некоторые штаммы вызывают не только заболевания желудочно-кишечного тракта, но поражают также мочеполовую систему, провоцируют кольпит, цистит, простатит, менингит у младенцев, а в некоторых случаях способны стать причиной развития гемолитическoureмического синдрома, перитонита, мастита, пневмонии и сепсиса. Достаточно распространены устойчивые к антибиотикам формы.

Купание или использование загрязненных кишечной палочкой природных вод может стать причиной негативных последствий для здоровья человека, особенно детей. Согласно действующим санитарно-гигиеническим нормативам коли-индекс природных вод рыбохозяйственного и культурно-рекреационного назначения не должен превышать 1000/л.

Санитарное состояние почвы – совокупность физико-химических, биологических свойств почвы, определяющих качество и степень ее безопасности в эпидемическом и гигиеническом отношении.

Почву оценивают как «чистую» без ограничений по санитарно-бактериологическим показателям при отсутствии патогенных бактерий и индексе санитарно-показательных микроорганизмов до 10 клеток на 1 г почвы.

О возможности загрязнения почвы патогенными энтеробактериями свидетельствует индекс санитарно-показательных микроорганизмов БГКП (колиформ) и энтерококков 10 и более клеток/г почвы.

Лабораторная работа № 67. Определение общего микробного числа в воде и почве

Общее микробное число – количественный показатель, отражающий общее содержание мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов в 1 л исследуемой воды или 1 дм³ почвы. Данный тест является важным интегральным санитарным пока-

зателем, который позволяет оценить общую микробную обсемененность объекта. Общее микробное число устанавливается путем подсчета всех колоний микроорганизмов, выросших при посеве исследуемой пробы воды или водной вытяжки почвы на питательную среду при 37 °С.

Существующие нормативы микробного числа регламентируют общее содержание микроорганизмов в продуктах питания и питьевых водах, однако четких санитарно-гигиенических норм для объектов окружающей среды не разработано. Показатель микробного числа сильно варьирует в зависимости от типа объекта, его химического состава и других факторов. В природных водах микробное число может достигать 1 000 000 на 1 л, приемлемым уровнем считается значение микробного числа от 10 до 1000 на 1 л для пресных вод. Химические и биологические загрязнения в природных водах постепенно оседают на дно и концентрируются в донных отложениях, поэтому для донных грунтов условно приемлемым считается значение микробного числа от 10 до 10 000 на дм^3 .

Оборудование и материалы

1. Термостат.
2. Автоклав.
3. Пипетки градуированные вместимостью 1, 5 и 10 мл.
4. Пробирки.
5. Стерильные чашки Петри.
6. Стерильная водопроводная вода.
7. Лактозо-пептонная среда (ЛПС) или среда Кесслера.

Подготовка проб

Пробы воды не требуют дополнительной подготовки, поскольку число бактерий в воде не превышает возможностей прямого подсчета колоний. Число бактерий в почве значительно выше, поэтому требуется проведение дополнительных манипуляций.

Образец почвы просеивают через сито диаметром 3 мм, тщательно перемешивают и из него отбирают навеску весом 1 г. Первое разведение навески почвы (1:10) делают в стерильной посуде, добавляя к суспензии стерильную водопроводную воду в соотношении 1:9 к весу почвы (1 г почвенной суспензии разводят в 9,0 см^3 стерильной водопроводной воды). Далее пробирку с почвенной суспензией закрывают резиновой пробкой и встряхивают в течение 10 минут. Затем готовят серию разведений, отбирая пипеткой 1 мл раствора и добавляя 9 мл стерильной воды. Операцию проводят еще три или четыре раза до получения разведения 0,0001 – 0,00001 г/л.

Приготовленные разведения используются для посева на питательные среды.

Ход анализа

В стерильные чашки Петри разливают подготовленную стерилизованную питательную среду, слегка приоткрывая крышку, чтобы избежать нарушения стерильности. Дают среде остыть до практически полной твердости и вносят 0,5 мл исследуемого раствора. Делают не менее трех повторностей для каждой пробы. Покачивая чашку, его распределяют по поверхности. Дают агару полностью застыть, переворачивают чашки крышкой вниз и помещают в термостат при температуре 35–37 °С.

Через 72 часа дня проводят учет выросших колоний. Результаты записывают в табл. 3.19.

Таблица 3.19

Схема записи результатов

Испытуемое вещество / повторности	Число колоний в чашке Петри	Концентрация бактерий в среде
Вода		
1		
2		
3		
Почва		
1		
2		
3		

Делают выводы.

Лабораторная работа № 68. Определение коли-индекса

Коли-индекс – количество кишечных палочек (*E. Coli*), обнаруживаемое в единице жидкости, почве или твердого вещества.

Для определения используется непосредственный прямой посев исследуемого материала на питательную среду Эндо. Определение патогенных и условно патогенных микроорганизмов проводится посредством приготовления препаратов под большим увеличением с помощью определителей и окрашивания препаратов по методу Грама.

Большая часть патогенных для человека микроорганизмов относится к грамположительным. Шесть родов грамположительных организмов являются типичными патогенами человека. Два из них, стрептококки и стафилококки, являются кокками (шарообразными бактериями). Остальные – палочковидные.

Кроме кишечной палочки в пробах обнаруживаются грамотрицательные бактерии рода стрептококк, являющиеся паразитами животных и человека, образующие длинные цепочки. Обитают в дыхательных и

пищеварительных путях, особенно в полости рта, носа, в толстом кишечнике. Некоторые виды стрептококков способны вызывать пневмонию, бронхит и септические процессы. И грамположительные стафилококки – неподвижные кокки – характерны для нормальной кожной микрофлоры человека и животных. Широко распространены в почве и воздухе. Некоторые патогенные и условно патогенные виды стафилококка способны колонизировать область носоглотки и кожные покровы, могут стать причиной воспалительных процессов почти во всех органах и тканях, а также способны вызывать сепсис, конъюнктивит, гнойную инфекцию ран, цистит и уретрит. Энтерококки – грамположительные кокки, образующие диплококки или короткие цепочки, являются нормальной составляющей микрофлоры кишечника человека. Многие штаммы энтерококков могут стать причиной инфекции мочевыводящих путей, бактериальный эндокардит и менингит. Наиболее важной особенностью рода энтерококков является их высокий уровень эндемической антибиотикорезистентности.

Оборудование и материалы

1. Термостат.
2. Автоклав.
3. Пипетки градуированные вместимостью 1, 5 и 10 мл.
4. Стерильные пробирки.
5. Стерильные чашки Петри.
6. Стерильная водопроводная вода.
7. Среда Эндо.
8. Спиртовки.
9. Раствор кристаллического фиолетового.
10. Раствор Люголя.
11. Раствор фуксина.
12. Предметные и покровные стекла.
13. Микробиологические петли.
14. Этиловый спирт 96%-й.
15. Микроскопы

Растворы

1. Кристаллический фиолетовый, водный раствор: кристаллический фиолетовый – 20 мг; вода дистиллированная – 100 мл.
2. Раствор Люголя в модификации Грама. Йод кристаллический – 1 г; калий йодистый – 2 г; вода дистиллированная – 300 мл. В ступку емкостью 30–50 мл помещают навеску йода и йодистого калия, растирают смесь пестиком, добавляют 1 мл дистиллированной воды и, продолжая растирать кристаллы, добавляют еще 5 мл воды. Йод растворяется в йо-

дистом калии. Раствор количественно переносят в склянку и доводят общий объем до 300 мл. Срок годности раствора не более 30 дней; хранят его в темной посуде.

3. Фуксин основной карболовый (фуксии Циля): 5%-й водный раствор свежеприготовленного фенола – 100 мл; насыщенный спиртовой раствор фуксина основного – 10 мл. Приготовленную смесь через 48 ч отфильтровывают. Краситель отличается устойчивостью.

4. Фуксин основной, водный раствор: карболовый фуксин Циля – 1 мл; вода дистиллированная – 9 мл. Водный фуксин готовят непосредственно перед употреблением, так как он нестойк.

Ход анализа

Подготовка проб аналогична указанной в предыдущей работе.

В стерильные чашки Петри разливают подготовленную стерилизованную питательную среду Эндо, слегка приоткрывая крышку, чтобы избежать нарушения стерильности. Дают среде остыть до практически полной твердости и вносят 0,5 мл исследуемого раствора.

Делают не менее трех повторностей для каждой пробы. Покачивая чашку, его распределяют по поверхности. Дают агару полностью застыть, переворачивают чашки крышкой вниз и помещают в термостат при температуре 35–37 °С. Через 72 часа проводят учет темно-красных колоний с металлическим блеском. Отдельно считают розовые и бесцветные колонии. Из колоний каждого типа делают мазки, которые окрашивают по Грамму и микроскопируют.

Окраска по Граму заключается в следующем. На предметное стекло делают мазок изучаемых микроорганизмов. Мазки следует готовить тонкими, чтобы клетки равномерно распределялись по поверхности стекла и не образовывали скоплений. Препарат высушивают на воздухе, фиксируют над пламенем горелки и окрашивают в течение 1–2 мин кристаллическим фиолетовым. Затем краситель сливают и, не промывая мазок водой, обрабатывают его 1–2 мин раствором Люголя до почернения. Сливают раствор Люголя, препарат обесцвечивают 0,5–1,0 мин 96%-м этиловым спиртом, быстро промывают водой и дополнительно окрашивают 1–2 мин водным фуксином. Краситель сливают, препарат промывают водой, высушивают и микроскопируют.

При правильном окрашивании грамположительные бактерии имеют сине-фиолетовый, грамотрицательные – розово-красный цвет.

Микроорганизмы зарисовывают с поля зрения микроскопа, определяют принадлежность к роду и результаты заносят в табл. 3.20.

По числу колоний *E. coli* определяют коли-индекс. Число остальных микроорганизмов свидетельствует о степени патогенного загрязнения среды.

Таблица 3.20

Количественный учет микроорганизмов разных родов

Испытуемое вещество	Количество колоний <i>Escherichia coli</i>	Количество колоний рода <i>Enterococcus</i>	Количество колоний рода <i>Streptococcus</i>	Количество колоний рода <i>Stafilococcus</i>
вода				
почвенная вытяжка				

Лабораторная работа № 69. Анализ аккумуляции мутагенных и канцерогенных веществ с помощью теста Эймса сальмонеллы / микросомы

Работа разработана в МГУ Фонштейном Л.М. в 1977 [Федорова Е.В., 2004], модифицирована Котелевцевым С.В. и Глазером В.М. [Котелевцев С.В., 1986] и адаптирована в эколого-аналитической лаборатории факультета географии и геэкологии Воронежского университета.

Мутациями называют изменения наследственных свойств организма в результате перестроек и нарушений в генетическом материале организма (хромосомах и генах).

Представление о мутации как о причине внезапного появления нового признака было впервые выдвинуто в 1901 г. голландским ботаником Гуго де Фризом, изучавшим наследственность у энотеры *Oenothera lamarckiana*. Спустя 9 лет Т. Морган начал изучать мутации у дрозофилы, и вскоре при участии генетиков всего мира у неё было идентифицировано более 500 мутаций [Бочков Н.П., 1989].

Мутации возникают случайным образом и спонтанно, т.е. любой ген может мутировать в любой момент. Частота возникновения мутаций у разных организмов различна, но, по-видимому, связана с продолжительностью жизненного цикла: у организмов с коротким жизненным циклом она выше.

В результате работ Г. Дж. Мёллера в 20-е гг. XX в. было установлено, что частоту мутаций можно повысить по сравнению с их спонтанным уровнем, воздействуя на организмы рентгеновскими лучами. В дальнейшем выяснилось, что частоту мутаций также можно значительно повысить с помощью ультрафиолетовых лучей и гамма-лучей. Мутагенным действием обладают и разнообразные химические вещества, в частности иприт, кофеин, формальдегид, колхицин, некоторые компоненты табака и всё возрастающее число лекарственных препаратов, пищевых консервантов и пестицидов [Бочков Н.П., 1989].

Мутации, возникающие в результате изменения числа или макро-структуры хромосом, известны под названием хромосомных мутаций или хромосомных aberrаций (перестроек). Некоторые типы хромосомных мутаций изменяют действие некоторых генов и оказывают на фенотип гораздо более глубокое влияние, чем генная мутация. Эти изменения выражаются либо в анеуплоидии – утрате или добавлении отдельных хромосом, полиплоидии – добавлении целых гаплоидных наборов хромосом. Также к хромосомным aberrациям относят инверсию, транслокацию, делецию и дупликацию.

Инверсия возникает в результате вырезания участка хромосомы, который поворачивается на 180 °С, а затем вновь встраивается на прежнем месте. При этом никаких изменений генотипа не происходит, но возможны фенотипические изменения.

При транслокации от одной из хромосом отрывается участок и присоединяется к другому концу той же хромосомы, либо к другой не-гомологичной хромосоме.

Самая простая форма хромосомной мутации – это делеция, или нехватка, то есть утрата хромосомой какого-нибудь участка, промежуточно-го или концевой. При этом в хромосоме уже не достаёт некоторых генов.

Иногда какой-либо участок хромосомы удваивается, так что возникает дупликация – повторение набора генов, локализованных в этом участке. Этот дополнительный набор может оказаться внутри той же хромосомы или на одном из её концов, а иногда присоединяется к какой-нибудь другой хромосоме.

Внезапные спонтанные изменения фенотипа, которые нельзя связать с обычными генетическими явлениями или микроскопическими данными о наличии хромосомных aberrаций, можно объяснить только изменениями в структуре отдельных генов. Генная, или точечная (поскольку она относится к определённому генному локусу), мутация – результат изменения нуклеотидной последовательности молекулы ДНК в определённом участке хромосомы. Это приводит к тому, что мутантный ген либо перестаёт работать и тогда не образуется соответствующая РНК и белок, либо синтезируется белок с изменёнными свойствами, что проявляется в изменении каких-либо признаков организма. Вследствие генной мутации образуются новые аллели. В эту группу включают как мелкие делеции, дупликации и инверсии, так и изменения наследственного кода на молекулярном уровне (истинные генные мутации). Провести грань между этими двумя группами изменений часто не удается.

Способность к мутациям присуща всем генам, как в половых, так и в соматических клетках организмов. Спонтанные мутации отдельных генов редки, в среднем их частота равняется одной мутации на 100 - 200 тысяч или даже на 1 миллион генов, а иногда и еще меньше. Это имеет

определенный эволюционный смысл, так как создает стабильность наследственной системы, без чего невозможно существование самой жизни. Стабильность обеспечивается, в частности, наличием ферментов, под действием которых происходит репарация нарушений, возникающих в наследственных структурах. Разные гены мутируют неодинаково часто, что свидетельствует о зависимости мутабельности как от структуры гена, так и от остального генотипа, физиологического состояния клетки и всего организма, в частности его возраст, а также многие условия внешней среды сильно влияют на темп мутагенеза [Кулинский В.И., 1999].

Чаще всего генные и хромосомные мутации являются летальными. Но именно они лежат в основе многих аномалий развития организмов, наследственных заболеваний, а также образования доброкачественных и злокачественных опухолей, которые приводят к раковым заболеваниям.

Мутации не имеют приспособительного характера и не адекватны действующим на организм факторам: под влиянием одних и тех же воздействий могут возникать мутации разных генов; вместе с тем при различных воздействиях могут мутировать одни и те же гены. На этом основании сформулирован принцип ненаправленности мутационного процесса. Однако и при естественном, и при искусственно индуцированном мутагенезе, особенно вызванном химическими мутагенами, обнаруживается известная специфичность спектра возникающих мутаций, что связано как со своеобразием механизма действия мутагена, так и с особенностями генотипа организмов.

Например, воздействие на делящиеся клетки алкалоидом колхицином ведет к полиплоидизации клеток, чем широко пользуются для получения новых форм растений методами экспериментальной полиплоидии. Ультрафиолетовые лучи и химические мутагены индуцируют большей частью генные мутации, тогда как нейтроны вызывают значительный процент перестроек хромосом. Обнаружены факты специфики мутирования определенных генов при различных мутагенных воздействиях. В опытах на вирусах и бактериях выявлено избирательное действие некоторых химических мутагенов на определенные азотистые основания, входящие в молекулу ДНК [Кулинский В.И., 1999].

Как было сказано выше, мутации могут возникать спонтанно или под действием различных мутагенных факторов или мутагенов. Большинство химических мутагенов является веществами, чужеродными для организма – ксенобиотиками. Мутаген, как всякий ксенобиотик, претерпевает в организме ряд превращений.

Для физиолого-биохимического аппарата клетки не так уж важно, откуда в нее поступили чужеродные или токсические вещества – из другого организма или из техносферы. В зависимости от химизма посту-

пивших в клетку веществ она оказывается объектом метаболических превращений, в которых участвуют те или иные ферменты.

На первый взгляд, может показаться удивительным, что в живых системах (организмах) есть ферменты, способные метаболизировать довольно сложные молекулы ксенобиотиков (например, пестицидов), с которыми они «познакомились» буквально в последнее время и к которым не могло быть специальной макроэволюционной адаптации. Это удивление, по крайней мере отчасти, исчезает, если вспомнить о том, что организмам необходимо иметь биохимическую защиту для инактивации или хотя бы ослабления влияния того поразительного многообразия токсических соединений.

По всей вероятности, именно поэтому в условиях постоянного пресса множества чужеродных и токсичных антропогенных веществ организмы в определенной мере способны разлагать и обезвреживать их.

Метаболизм ксенобиотиков в организме иногда называют детоксикацией. Известно, однако, что превращения некоторых ксенобиотиков сопровождаются образованием еще более токсичных веществ. Поэтому в отношении таких превращений более правилен термин «биотрансформация», широко употребляемый сегодня в литературе.

По мере открытия различных по химическому строению метаболитов ксенобиотиков рос интерес к биохимическим реакциям, по которым они трансформируются в организмах [Мутагены..., 1994].

В цитоплазме клетки ферментные системы могут разрушить молекулу мутагена, в результате чего он утратит свои мутагенные свойства. Но часто происходит обратное, когда метаболиты данного ксенобиотика оказываются более мутагенными, чем исходное вещество. В этом случае говорят о метаболической активации мутагена. В результате взаимодействия с хромосомами клетки мутаген вызывает в них потенциальные изменения, которые могут реализоваться в истинные мутации или быть «залечены» ферментными системами, которые следят за постоянством структуры ДНК и репарирующими любые её нарушения, возникающие как спонтанно, так и под влиянием разнообразных мутагенных воздействий [Мутагены..., 1994].

Большое значение имеет место поступления мутагена в организм. В систему кровообращения поступают мутагены, всасывающиеся в ротовой полости, прямой кишке, в лёгких или через кожу. Мутагены, всасывающиеся в других отделах желудочно-кишечного тракта, прежде, чем достигнуть общего кровотока, попадают в печень, где особенно мощно представлены все системы метаболизма ксенобиотиков [Приказ., 2009].

Существенное значение для последующего мутагенного действия имеют концентрация мутагена в крови, связывание его белками сыворотки крови, белками в межклеточном пространстве и в цитоплазме кле-

ток, скорость проникновения через различные мембраны, наличие в них транспортных систем, скорость кровотока.

При попадании в клетку любого генотоксического соединения там происходят метаболизм, связывание и выведение ксенобиотиков, что в большинстве случаев приводит к снижению их токсичности. Это позволяет выживать даже на сильно загрязнённых территориях, хотя и не исключает риска заболеваний.

Метаболизм ксенобиотиков, как правило, приводит к снижению их активности – дезактивации, которую в случае токсичных веществ называют детоксикацией. Однако в некоторых случаях метаболиты ксенобиотиков становятся, наоборот, более активными (активация) и/или более токсичными (токсификация). В метаболизме ксенобиотиков, в том числе и мутагенных, участвуют около 30 ферментов [Приказ., 2009].

В нём различают 2 фазы:

1. Модификация, создающая или освобождающая функциональные группы.

2. Конъюгация – присоединение к функциональным группам других групп или молекул.

Наиболее часто метаболизм происходит именно в такой последовательности, но при наличии в молекуле ксенобиотика функциональных групп он может сразу же подвергнуться конъюгации. Обычно обе фазы, особенно при совместном действии, приводят к увеличению гидрофильности и снижению активности и токсичности молекул. Третьей фазой – уже не метаболизма, а пребывания в организме мутагенов – можно считать связывание и выведение самих антибиотиков и их метаболитов из клетки, а затем из организма.

В первой фазе наибольшую роль играет система цитохрома Р-450 (микросомальный метаболизм). Однако существуют и внемикросомальные реакции первой фазы. Во второй фазе наиболее важны реакции конъюгации, осуществляемые различными трансферазами. Обе фазы имеют свои достоинства и недостатки; их совместное функционирование особенно эффективно и в большинстве случаев приводит к превращению многих тысяч генотоксических соединений в более гидрофильные и менее токсичные метаболиты. Процессы связывания и выведения также защищают от ксенобиотиков [Арчаков А.И., 1975].

Большинство химических веществ, попадая в организм растений, животных и человека, не используется ни в пластическом, ни в энергетическом обмене, но, под воздействием ферментных систем организма, могут превращаться в разнообразные биологически активные соединения. Многие из химических веществ являются непосредственными («прямыми») мутагенами или канцерогенами, другие («косвенные» му-

тагены или промутагены и проканцерогены) становятся ими в результате метаболических превращений в организме [Арчаков А.И., 1975].

С целью анализа мутагенного и канцерогенного эффекта химических веществ и оценки генетических последствий загрязнения окружающей среды во многих лабораториях мира активно разрабатываются специальные тест-системы. Такие тест-системы должны отличаться, прежде всего, высокой чувствительностью, способностью улавливать мутагенную и канцерогенную активность как можно более широкого спектра химических соединений, быстротой, экономичностью, возможностью анализа молекулярных механизмов действия мутагенов [Методы., 1985].

Наиболее распространенными являются бактериальные тест-системы. Общим достоинством бактериальных тестов является быстрота, экономичность, высокая чувствительность, возможность учета мутаций различных типов. Основным недостатком заключается в отсутствии у этих бактерий ферментных систем метаболической активации ксенобиотиков. Известно, что в организме млекопитающих и других высших организмов многие промутагены и проканцерогены могут подвергаться так называемой метаболической активации при участии монооксигеназ – ферментных систем, осуществляющих микросомное окисление. Центральную роль в этих системах, максимальная активность которых связана с эндоплазматическим ретикулумом клеток печени, играют множественные индуцируемые формы цитохромы Р-450. Основное назначение этих систем, вероятно, заключается в инаktivации чужеродных соединений, но определенная часть промутагенов и проканцерогенов может активироваться в качестве побочных продуктов, т.е. превращаться в мутагены и канцерогены. Поэтому бактерии оказались нечувствительными к ряду промутагенов и проканцерогенов, активных в отношении высших организмов [Методы., 1985].

Наиболее широкое распространение получили тесты с метаболической активацией *in vitro*, в которых используется фракция микросом (постмитохондриальный супернатант) из гомогенатов печени животных, обычно крыс или мышей (так называемая фракция S 9). При введении в тест-систему фракции S9 и необходимых кофакторов (Mg^{++} , НАДФН) начинает функционировать система микросомного окисления, осуществляющая, по существу, те же процессы, что происходят в печени животного. Использование метаболической активации *in vitro* резко повысило чувствительность бактериальных тест-систем и существенно расширило их возможности. Достаточно сказать, что сравнение частот реверсий у индикаторных бактерий в вариантах с метаболической активацией и без нее позволяет судить о том, как зависит мутагенная активность исследуемого препарата от функционирования микросомальных систем окисления [Арчаков А.И., 1975].

В то же время необходимо иметь в виду, что такие модельные системы с использованием фракции микросом из печени крыс или мышей, предварительно активированных одним из стандартных индукторов (фенобарбитал, метилхолантрен, арохлор 1254), имеют определенные ограничения, связанные с тем, что скорость реакций активации и инактивации зависит от индуцирующего агента, от возраста, пола, физиологического состояния и видовой принадлежности объекта, послужившего источником фракции S9. Таким образом, конечный мутагенный и канцерогенный эффект исследуемого соединения в организме определяется совокупностью целого ряда факторов. Очевидно, что эти ограничения можно в определенной мере снять, используя для метаболической активации фракцию S9, наиболее соответствующую требованиям каждого конкретного эксперимента [Котелевцев С.В., 1986].

Система метаболической активации может использоваться во всех бактериальных тест-системах. В дальнейшем при сопоставлении различных бактериальных тестов мы будем рассматривать их в этом наиболее чувствительном варианте.

Для этих тест-систем были созданы специальные штаммы бактерий, несущие одну или несколько мутаций ауксотрофности, природа которых известна. Это либо мутации типа замены оснований, либо типа сдвига рамки считывания генетического кода (вставка или выпадение нуклеотида). Мутации типа замены оснований ревертируют только под действием мутагенов, вызывающих замены оснований; мутации типа сдвига рамки — под действием соответствующих мутагенов. Для повышения чувствительности тест-штаммов в них вводятся мутации, приводящие к дефектам процессов репарации генетических повреждений, что снижает их способность восстанавливать повреждения ДНК [Приказ..., 2009].

Наиболее распространенными для учета ревертантов являются так называемые чашечные тесты, где проводят учет колоний прототрофных ревертантов на твердой селективной среде. Эти тесты можно подразделить на полуколичественные, где учитывается число ревертантов на чашку, и количественные, где определяется частота ревертантов среди выживших клеток [Федорова Е.В., 2004].

Для создания тест-системы Эймсом и его сотрудниками были сконструированы специальные штаммы. Все штаммы происходят от лабораторного штамма *S. typhimurium* LT2, у которого были выделены ауксотрофные по гистидину мутанты: мутация замены оснований в *his* G-гене гистидинового оперона и мутация типа сдвига рамки считывания в генах C и D, соответственно. Первая мутация ревертирует под действием мутагенов, вызывающих замены оснований, две другие — под действием агентов, индуцирующих сдвиг рамки считывания. Для повы-

шения чувствительности штаммов в них была введена протяженная мутация, вызывающая нарушение системы репарации. Следующим этапом повышения чувствительности штаммов было введение в них мутации, приводящей к утрате наружного липосахарида и к увеличению проницаемости клеточной стенки. Далее в штаммы были введены плазмиды рКМ 101, передающие штаммам устойчивость к ампицилину. Таким образом, были сконструированы высокочувствительные штаммы: ТА 100, ТА 98 [Юрин В.М., 2002, Ames, B.N., 1975].

Вещества, вызывающие мутации типа замены оснований, вызывают реверсии к прототрофности по гистидину у штамма ТА 100, а мутагены, вызывающие сдвиг рамки считывания – у штамма ТА 98.

Принципиальная схема теста проста. В пробирку с расплавленным 0,6%-м агаром вносятся определенные количества клеток тестерного штамма, испытываемого вещества, фракции S9 и кофакторов. В варианты без метаболической активации вместо фракции S9 вносят равный объем 0,15 М KCL. Полученная смесь выливается в качестве верхнего слоя на поверхность твердой среды, обеспечивающей селективный рост ревертантов His⁺. Через 2–3 дня проводится учет колоний ревертантов на чашках [Федорова Е.В., 2004].

Оценка результатов производится исходя из следующих критериев. Если количество колоний на опытных чашках превышает число колоний на контрольных чашках без мутагена не более чем в 1,7 раза, делается заключение, что мутагенная активность не выявлена. Если наблюдается превышение в 1,7–10 раз, делается вывод о слабой, в 10–100 раз – о средней, более чем в 100 раз – о сильной мутагенной активности препарата [Федорова Е.В., 2004].

В общем случае схема выделения мутагенной активности состоит из следующих этапов:

- 1) гомогенизация ткани;
- 2) экстракция (водная или органическими растворителями);
- 3) осаждение белков;
- 4) установление pH;
- 5) концентрация мутагенов;
- 6) растворение мутагенов в ДМСО;
- 7) биологическая тест-система;

При гомогенизации ткани клетки разрушаются с помощью гомогенизатора типа «Potter» или «Politron» с добавлением определенного объема воды или органического растворителя. Водные экстракты животных тканей содержат большое количество белков, которые в последующих операциях могут затруднить выделение мутагенных соединений. По сравнению с водной экстракцией наиболее удачной и общепринятой яв-

ляется экстракция полярными органическими растворителями: ацетоном, метанолом, этанолом. Использование этих растворителей позволяет не только коагулировать белки, но и максимально перевести мутагенные и канцерогенные соединения, характеризующиеся, в основном, гидрофобной природой, в растворимое состояние.

Следующим этапом выделения мутагенной активности является концентрация мутагенных веществ из раствора. При исследовании больших количеств исходного материала (воздух, вода) этот этап становится первым в процедуре выделения мутагенов [Федорова Е.В., 2004].

Находящиеся в малых концентрациях в водном экстракте мутагены переводят в небольшой объем органического растворителя (гексан, дихлорэтан, ДМСО и т.д.), упаривают до определенного объема или высушивают на роторном испарителе при повышенной температуре (45–50 °С), или под струей азота и далее определяют мутагенную активность выделенного препарата на биологической тест-системе [Котелевцев С.В., 1986].

Таким образом, каждый из рассмотренных методов экстракции и концентрации мутагенных соединений, несмотря на относительную универсальность, дает хороший результат только для определенного класса мутагенных соединений. Полный генотоксический анализ различных компонентов окружающей среды, по-видимому, целесообразно проводить, используя различные методические приемы экстракции. Только в этом случае можно быть уверенным, что какой-нибудь класс мутагенных соединений не упущен из генотоксического анализа [Смирнова Т.В. и др., 1998].

Оборудование и материалы

1. Делительная воронка объемом 1 л.
2. Роторный испаритель.
3. Автоклав.
4. Сухожарочный шкаф.
5. Пробирки с притертыми пробками.
6. Термостойкие колбы на 2; 0,5 л.
7. Пробирки.
8. Чашки Петри.
9. Микропипетки на 0,1 мл.
10. Пипетки на 1, 10 мл.
11. Смесь гексан: ацетон (1 : 1).
12. ДМСО (диметилсульфоксид).
13. Культура тестерных штаммов (*Salmonella typhimurium*) TA98 и TA100.
14. Минимальная питательная среда Адамса:
 - 1) 4-кратный раствор солей (в г на 1 л дистиллированной воды):
– натрий лимоннокислый трехзамещенный – 2,24;

- $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ – 55;
- KH_2PO_4 – 18;
- $(NH_4)_2SO_4$ – 4.

Перед стерилизацией разливается на порции по 250 мл.

2) водный агар (готовят по описанию на этикетке);

3) 10 %-й $MgSO_4 \cdot 7H_2O$.

4) 40 %-я глюкоза.

Все компоненты стерилизуются в автоклаве, причем раствор глюкозы при давлении не выше 0,5 атм.

Перед разливкой чашек в колбу с расплавленным водным агаром добавляют 250 мл раствора солей, 0,5–1 мл 10 %-го $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ и 10 мл раствора глюкозы, смесь перемешивают и разливают в чашки Петри по 25 мл.

15. Агар верхнего слоя:

- гель 0,6%-го агара;
- 0,5%-й NaCl;
- L-гистидин – концентрация 0,05 мМ;
- биотин – концентрация 5 мМ.

Смесь расплавляют в кипящей водяной бане или микроволновой печи, разливают по 2 мл в пробирки, стерилизуют автоклавированием 15 мин при 121 °С и хранят до использования.

Ход анализа

Предварительную экстракцию аккумулялированных в образцах ксенобиотиков проводят следующим образом:

а) из воды: в делительную воронку заливают 1 литр исследуемой воды и 10–15 мл гексана. Затем встряхивают воронку до равномерного распределения растворителя в воде. Отстаивают до тех пор, пока растворитель (экстракт) выходит на поверхность, сливают воду до границы разделения сред. Повторяют, не сливая экстракта, несколько раз (3–5 л воды). Потом экстракт сливают в пробирку с притертой пробкой. Экстракты упаривают до сухого веса на роторном испарителе и разводят осадок из расчёта 1 мл ДМСО на 100 мг;

б) из почвы (растительных, животных образцов): 9–10 г пробы высушивают на воздухе, заливают в соотношении 1:5 смесью органических растворителей (ацетон: гексан = 1 : 1) и выдерживают в течение суток. Полученный экстракт сливают в сборную колбу, а процедуру повторяют ещё несколько раз до получения неокрашенного экстракта. Объединённые экстракты упаривают до сухого веса на роторном испарителе и разводят осадок из расчёта 1 мл ДМСО на 100 мг;

После подготовки экстрактов проводят *тест Эймса*.

В связи с отсутствием лабораторных животных и невозможностью приготовить активирующую фракцию S9, тест проводится только для выявления прямых мутагенов.

Клетки тестерных штаммов сальмонеллы культивируют в жидкой с добавлением ампицилина (50 мкг/мл) среде LB (бактопептон – 10 г/л, дрожжевой экстракт – 5 г/л, NaCl – 5 г/л) в течение ночи, отделяют от среды центрифугированием и разводят в физиологическом растворе до концентрации 5 000 000 клеток/мл.

Культуру клеток штамма TA 100, отличающуюся более высоким уровнем спонтанных реверсий His⁺, разводят в 15–20 раз физиологическим раствором, а клетки штамма TA 98 сгущают в 2 раза путем центрифугирования с последующим суспензированием в физиологическом растворе (1/2 объема от исходной культуры).

Перед началом разливают питательную среду в пронумерованные чашки Петри (по 6 чашек на образец), дают ей хорошенько застыть.

Пробирки с агаром верхнего слоя расплавляют и помещают на водяную баню при температуре 45 °С, чтобы агар не застыл в процессе постановки теста.

При постановке опыта в пробирки с агаром верхнего слоя (t 44–46 °С) добавляют 0,1 мл суспензии клеток индикаторных бактерий, 0,1 мл испытуемого вещества или контрольной смеси. Получившуюся смесь сразу же перемешивают вращением пробирки между ладонями. Содержимое выливают на поверхность находящейся в чашке минимальной среды. Покачивая осторожно чашку, равномерно распределяют верхний слой агара. После застывания агара чашку переворачивают вверх дном и инкубируют в темноте при 37 °С.

В эксперименте помимо опытных вариантов присутствуют и контрольные, содержащие: 1) только культуру бактерий с растворителем выделенных ксенобиотиков (например, ДМСО), 2) бактерии с известными мутагенами. Все пробы делаются в трех повторностях.

Через 2–3 дня проводится учёт колоний ревертантов на чашках. В данном тесте исследователи выявляют обратные мутации, в результате которых мутантные бактерии, не имеющие возможности расти в гистидиновой среде, снова приобретают способность жить и образовывать колонии в ней. В процессе подсчета колоний результаты записывают в таблицу 3.21.

После подсчета колоний проводят расчет средних значений числа колоний на чашку в опыте и контроле, отдельно для каждого штамма бактерий. Затем вычисляют кратность превышения опыта над контролем для каждого штамма [Смирнова Т.В. и др., 1998].

Оценка результатов производится, исходя из следующих критериев. Если количество колоний на опытных чашках превышает число колоний на контрольных чашках без мутагена не более чем в 1,7 раза, делается заключение, что мутагенная активность не выявлена. Если наблюдается превышение в 1,7–10 раз, делается вывод о слабой, в 10–100 раз – о средней, более чем в 100 раз – о сильной мутагенной активности препарата.

Таблица 3.21

Число колоний his-ревертантов в чашках Петри

Образец	ТА98						ТА100					
	№	чис- ло	№	чис- ло	№	чис- ло	№	чис- ло	№	чис- ло	№	чис- ло
Вода	1		2		3		4		5		6	
ДМСО	7		8		9		10		11		12	
2-АА ²	13		14		15		16		17		18	
Опыт...	19		20		21		22		23		24	
....	25		26		27		28		29		30	

Результаты экспериментов оформляют в отдельную таблицу в виде мутагенных индексов (МИ), отражающих отношение числа колоний ревертантов сальмонеллы, выросших в присутствии экстрактов из исследованных образцов, к количеству колоний в чашках с растворителем – диметилсульфоксидом. Делают выводы.

3.5. Биоиндикация на различных уровнях организации живой материи

Биоиндикация может проводиться на различных уровнях организации живого: макромолекул, клетки, организма, популяции, сообщества и экосистемы.

Обычно с повышением уровня организации биологических систем возрастает и их сложность, так как одновременно усложняются и их связи с окружающей средой. При этом биоиндикация на низших уровнях включается в биоиндикацию на высших уровнях. В то время как на низших уровнях организации биологических систем преобладают прямые, специфические виды индикации, связанные с воздействием какого-либо определенного стрессора, на высших уровнях осуществляется косвенная биоиндикация.

² 2-АА - 2-аминоантрацен – стандартный мутаген, обладающий прямым мутагенным действием.

Лабораторная работа № 70. Определение степени повреждения растений, вызываемого суховеями

Фактор засухи – сложное понятие. Засуха, по определению П.А. Генкеля (1982), – это биометеорологическое явление, которое характеризуется длительным, а иногда и кратковременным бездождным периодом, повышенной температурой воздуха, увеличением дефицита насыщения влажности воздуха, что вызывает усиление испарения и транспирации, в результате чего происходит обезвоживание и перегрев растений, вызывающие их повреждение, снижение продуктивности или даже гибель растений.

П.А. Генкель (1982) делает выводы о том, что засуха влияет на растения в двух направлениях, вызывая обезвоживание и одновременно перегрев. Внезапно наступившая засуха в виде суховея (ветер с высокой температурой и низкой относительной влажностью воздуха) или мглы может сильнее повлиять на растение, чем постепенно нарастающая. Засуха обычно начинается как атмосферная и переходит в почвенную.

Н.А. Максимов (1952) отмечает, что в полуденные часы в листьях растений наблюдается более или менее значительный водный дефицит даже при условии обильного снабжения водой корневой системы. При продолжающейся сухой погоде и при недостаточном запасе влаги в почве с утра имеющийся дефицит в полуденные часы может достигнуть таких пределов, когда начинающееся подсыхание сменяется уже настоящим завяданием. Граница между двумя этими состояниями растения лежит там, где уменьшение содержания воды в клетках приводит уже к потере ими тургора. Поскольку завядание является следствием засухи, его характер зависит от типа засухи. При атмосферной засухе наблюдается временное завядание, являющееся следствием того, что скорость потери воды превышает скорость ее поступления. Наибольший водный дефицит при временном завядании наблюдается в интенсивно транспирирующих органах – листьях, тогда как остальные части растения (особенно корни) большого недостатка воды не испытывают. Временное завядание прекращается само собой после устранения условий, вызывающих усиленную потерю воды (т.е. при наступлении вечера или при изменении погоды). При почвенной засухе, когда вся доступная растениям вода уже израсходована и самая незначительная потеря воды не может быть пополнена (без притока извне), наступает длительное завядание. Оно охватывает все растение от листьев до наиболее чувствительной к потере воды всасывающей зоны корневой системы. Происходит повреждение и отмирание корневых волосков, вследствие чего после восстановления нормального водного режима почвы растение не в состоянии

сразу восстановить прежнюю быстроту поступления воды. Оправление растений от длительного завядания возможно лишь после промачивания почвы в результате дождя или полива.

Усиление действия засух на растения наблюдается в городской среде, что объясняется своеобразным температурным режимом атмосферного воздуха. Средняя годовая температура в городе на несколько градусов выше, чем за его пределами. Наиболее высокие температуры воздуха характерны для центральных частей с плотной застройкой, обширными асфальтовыми поверхностями улиц, площадей. В городах образуются так называемые «острова тепла», при этом разница температур города и соседней с ним местности может достигать 8 °С.

Нагрев атмосферы над городом ощущается до 3 км высоты. Кроме того, на урбанизированных территориях снижается величина ультрафиолетовой радиации (в среднем до 20 %), понижается относительная влажность (до 8 %), растет число дней с туманами.

Оборудование и материалы

1. Сушильный шкаф.
2. Термометр.
3. Пинцет.
4. Термостойкие стаканы.
5. Вода.
6. Свежие листья древесных растений.

Ход анализа

Метод суховейных камер (по Л.И. Вигорову) используется в практике для оценки засухоустойчивости, поскольку высокая температура и иссушение растений горячим воздухом являются обычными условиями засухи.

Суть данного метода заключается в следующем. Необходимо поставить в термостойкие стаканы с водой (чтобы исключить недостаток влаги) срезанные ветви или 5–10 одинакового размера листьев древесных растений. Поместить образцы в нагретый сушильный шкаф с открытыми верхними и нижними вентиляционными отверстиями («суховейная камера») или использовать фен, подающий горячий воздух. Выдержать ветви при температуре 55–60 °С в течение 15–30 мин до появления признаков повреждения листьев у менее засухоустойчивых пород (рис. 3.1).

После чего подробно описываются все изменения листовых пластинок, вызванные совместным действием высокой температуры и потока горячего воздуха («суховея»). Отмечается потеря тургора, появление некрозов, их распределение по листовой пластинке, появление инфильтрационных пятен, скручивание краев листьев и т.д. [Вигоров Л.И., 1961].

В связи со сложным действием засухи (обезвоживание и перегрев) диагностировать растения необходимо одновременно на жаро- и засухоустойчивость.

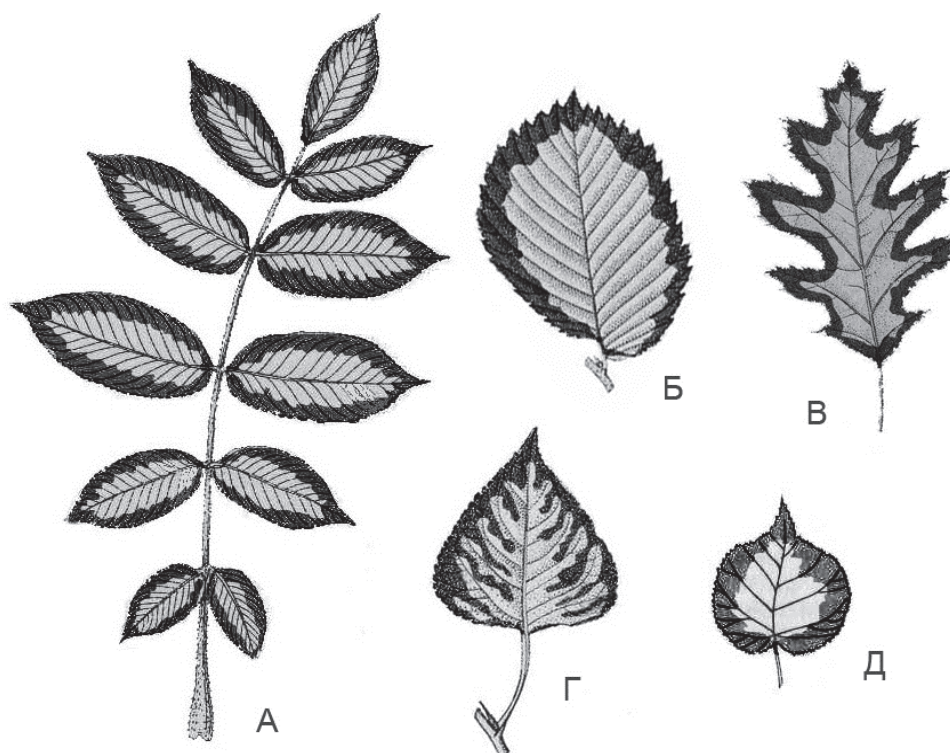


Рис. 3.1. Усыхание отдельных участков листовой пластинки под действием потока сухого горячего воздуха: А – орех маньчжурский, Б – вяз гладкий, В – дуб красный, Г – тополь черный, Д – липа мелколистная.

Учет повреждений листовых пластинок производится через каждые 15 мин в течение часа по шкале, приведенной в предыдущей работе.

Для учета времени выдержки присваивается коэффициент повреждения каждому временному промежутку: 15 мин – 1; 30 мин – 2; 45 мин – 3; 45 мин – 4, что целесообразно в связи с наличием прямой зависимости между степенью повреждения листовых пластинок и временем воздействия. В соответствии с этим формула (3.7) расчета итоговой балльной оценки выглядит так:

$$D_{dw} = \frac{d_1 \cdot 1 + d_2 \cdot 2 + d_3 \cdot 3 + d_4 \cdot 4}{4}, \quad (3.7)$$

где D_{dw} – итоговый балл поврежденности листовых пластинок; $d_1...d_4$ – балл повреждения «суховеет» в каждый период времени.

В выводах необходимо указать, какие виды оказались наиболее устойчивыми, а какие наименее к совместному действию высокой температуры и потоку горячего воздуха. Построить графики зависимости степени повреждения от времени выдержки в «суховеетной камере» (рис. 3.2).

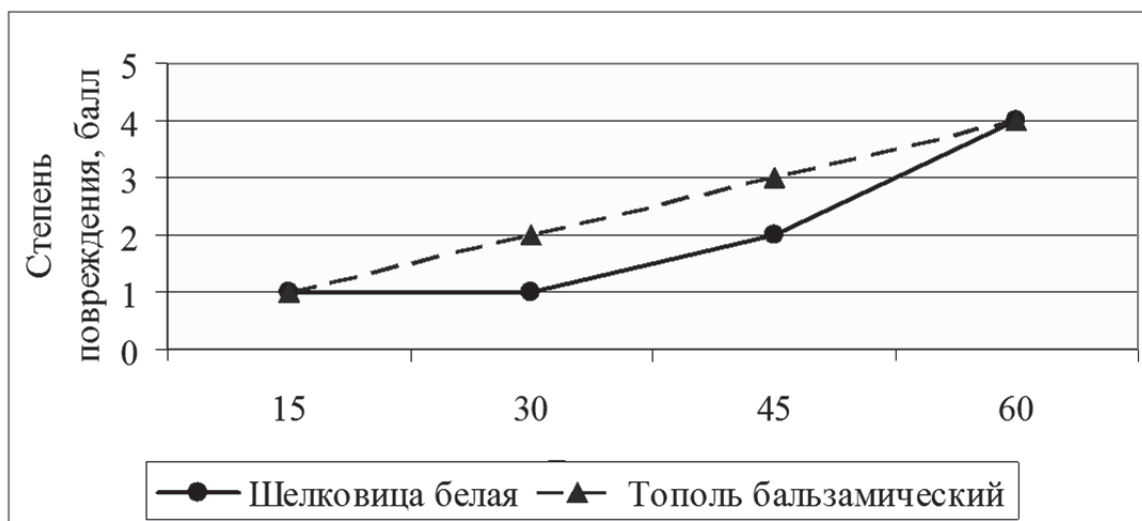


Рис. 3.2. Степень повреждения листовых пластинок «суховеет»

Лабораторная работа № 71. Определение устойчивости растений к низким температурам и степени их подготовленности к зимнему периоду на основе гистохимических реакций

У многолетних растений в условиях умеренного климата наблюдается сезонная периодичность морфолого-физиологических явлений, которая определяет степень их приспособления в том или ином районе. Перед зимой древесные растения переходят в более или менее выраженный период покоя [Сергеев Л.И., 1961], при котором почти полностью приостанавливаются ростовые процессы, и содержимое клеток претерпевает глубокие изменения.

Между состоянием покоя и морозоустойчивостью растений существует тесная и притом прямая зависимость. Чем глубже или, вернее, устойчивее покой у растения, тем оно обычно лучше переносит низкие зимние температуры, т.е. является более морозоустойчивым [Генкель П.А., 1975].

Разные ученые выделяют у древесных растений две или три фазы покоя. Так П.А. Генкель (1954, 1975) различает следующие периоды: 1) органического покоя; 2) глубокого покоя и 3) вынужденного покоя. Во время органического покоя «пробуждения» растения не происходит даже под воздействием искусственных факторов, вызывающих выход растения из покоя. Одновременно с органическим покоем или после его окончания начинается глубокий покой, связанный с процессом обособления протоплазмы. В органическом покое происходят процессы, связанные с обеспечением нормального роста весной. Глубокий покой в значительной мере обуславливает морозоустойчивость растений, так как лед, образовавшийся в межклетниках, не влияет на плазмодесмы в связи

с процессом обособления протоплазмы. Степень глубины покоя может быть разной в связи с особенностями того или иного вида или сорта и с характером осенней погоды. Во время глубокого покоя растение можно из него вывести, причем тем быстрее, чем меньше глубина покоя. При вынужденном покое растение не начинает роста только из-за неподходящих для этого условий.

Период глубокого покоя у большинства древесных пород средней полосы России завершается в ноябре – декабре. После этого наступает вынужденный покой. Поведение различных по зимостойкости древесных растений в этот период неодинаково. С этим и связано их различие по зимостойкости.

Л. И. Сергеев (1961) различает четыре этапа в годичном ритме роста растений: 1) период роста побегов, 2) период «скрытого роста», 3) период «глубокого покоя» и 4) период «вынужденного покоя». Первые два периода охватывают вегетацию, а два вторых – главным образом зимнее состояние древесных пород.

Основной причиной повреждения и гибели растений зимой является влияние низких температур. Растения под влиянием температуры $-3-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ среди лета погибает очень быстро, несмотря на то, что зимой это же растение переносит температуру $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Таким образом, покой является этапом роста растения и обуславливает, с одной стороны, нормальное протекание ростовых процессов весной (органический покой) и, с другой, важен для перезимовки растений (глубокий покой).

Оборудование и материалы

1. Микроскоп (при наличии с цифровой камерой-окуляром DCM 130).
2. Предметные и покровные стекла.
3. Кисточка.
4. Бритва или микротом.
5. Чашки Петри.
6. Пипетки.
7. Препаровальная игла.
8. 25%-я серная кислота (H_2SO_4).
9. 1%-й перманганат калия (KMnO_4).
10. 15%-я соляная кислота (HCl).
11. Раствор Люголя (в 100 мл 2%-го водного раствора йодистого калия (KJ) растворяют 1 г кристаллического йода).
13. Концентрированный аммиак.
14. Дистиллированная вода.
15. Флороглюцин (5%-й раствор в смеси спирта и дистиллированной воды (1:1)).
16. Побеги последнего года различных видов древесных растений.

Ход анализа

Важную роль при установлении степени морозоустойчивости является определение **вызревания побегов**. Для этого проводят визуальную оценку однолетних побегов древесных растений, в ходе которой учитывается цвет побегов и их ломкость. Вызревший побег обычно соломенно-коричневого цвета, хорошо ломается, почки хорошо выражены с коричневыми кроющими чешуями. Невызревший побег зеленый, гнется, почки мелкие.

Степень одревеснения (лигнификации) годичных побегов у древесных растений может служить диагностическим показателем подготовленности их к зимовке. Лигнин является одним из основных компонентов клеточной оболочки. В одревесневшей клеточной стенке срединная пластинка и первичная оболочка содержат около 70–80 % лигнина.

Степень лигнификации оболочек клеток древесины определяют при помощи двух наиболее характерных гистохимических реакций, открывающих две группы лигнина: компоненты лигнина «Ф» и «М». Флороглюциновая реакция выявляет компонент «Ф», содержащийся, прежде всего, с наружной стороны клеточной оболочки, а реакция Меуле (перманганатная) – компонент «М», обнаруживаемый с внутренней стороны [Барская Е.И., 1967].

Флороглюциновая реакция является наиболее характерной и распространенной гистохимической реакцией для анализа одревеснения. Для ее проведения делают поперечные срезы побегов бритвой (либо микротомом) и помещают в воду в чашку Петри, затем срезы вынимают кисточкой и помещают на предметное стекло. Для получения достоверных данных необходимо делать несколько срезов и проводить реакцию в двукратной повторности. На срезы добавляют 2–3 капли 5%-го раствора флороглюцина и выдерживают 1–2 мин, после чего добавляют 1–2 капли 25%-й серной кислоты. Закрывают покровным стеклом и через 5–7 мин (но не позже, чем через 12–15 минут во избежание изменения интенсивности окраски), срезы рассматривают под микроскопом. Одревесневшие оболочки окрашиваются при этом в малиновый цвет, что свидетельствует о присутствии компонента лигнина «Ф» [Барская Е.И., 1967; Барыкина Р.П. и др., 2000].

Для проведения **перманганатной реакции (реакция Меуле)** срезы из воды помещают на предметное стекло и заливают 2–3 каплями 1%-го водного раствора перманганата калия на 5 минут до побурения, затем раствор удаляют фильтровальной бумагой и срезы обрабатывают слабым раствором соляной кислоты до их обесцвечивания. Кислоту удаляют фильтровальной бумагой, здесь же на стекле два-три раза срезы промывают дистиллированной водой и наносят 2–3 капли концентрированного раствора аммиака. Затем накрывают покровным стеклом и сразу же рассматривают под микроскопом. Оболочки, содержащие лигнин «М», окрашиваются в томатно-красные тона [Барская, 1967; Барыкина Р.П. и

др., 2000]. Следует отметить, что в тканях голосеменных растений перманганатная реакция отрицательна, для двудольных она вполне типична, а у однодольных часто наблюдается лишь побурение одревесневших оболочек (т.е. происходит неполная реакция).

Та или иная степень лигнификации древесины, взятая сама по себе, как отдельный признак, не может характеризовать морозостойкость разнообразных видов растений. Она является одним из показателей подготовленности древесных растений к перезимовке лишь у тех видов и сортов из определенных систематических групп (родов), морозостойкость которых взаимосвязана с одревеснением.

Ко времени окончания ростовых процессов в растении в большом количестве накапливаются полисахариды в виде крахмала. Растущие, формирующиеся клетки древесины, как правило, не содержат запасных веществ. В зимний период у древесных растений происходит превращение крахмала в жиры и липоиды [Генкель П.А., 1954а].

Интенсивность превращения крахмала зависит от видового состава растений и находится в тесной связи с их устойчивостью. Зимой в тканях устойчивых пород по сравнению с неустойчивыми происходит быстрое и полное превращение крахмала. С марта же содержание крахмала в растениях постепенно возрастает. Следовательно, определение содержания крахмала в разных тканях побега, главным образом в сердцевинных лучах и прикамбиальных клетках древесины, в осенне-зимний период может быть дополнительным методом определения вызревания древесины, законченности ее дифференциации [Барская Е.И., 1967].

В гистохимии полисахаридов существует только одна специфическая **реакция на крахмал**, впервые примененная в 1825 г. Ковентом – реакция с йодом в растворе йодистого калия. Для проведения этой реакции срезы помещают на 5–10 мин в раствор Люголя. Затем их промывают в дистиллированной воде и рассматривают в воде или лучше в глицерине [Барыкина Р.П. и др., 2000]. Клетки, заполненные крахмалом, при малом увеличении микроскопа окрашены в цвета от синего до почти черного, при большом увеличении микроскопа в клетках можно рассмотреть отдельные окрашенные крахмальные зерна. Оттенок зависит от состояния крахмального зерна. При уменьшении молекулярного веса продуктов гидролиза крахмала окраска их меняется так: сине-фиолетовая, темно-бурая, красная. Затем они перестают давать реакцию с йодом.

В ходе проведения гистохимических реакций отмечается интенсивность окраски срезов в разных частях побега согласно схеме.

Количество крахмала оценивалось по балльной шкале: 0 – крахмала нет (реакция в растворе Люголя отсутствует); 1 – следы, едва заметное наличие крахмала; 2 – незначительное содержание крахмала (слабо-

или средне-фиолетовая окраска); 3 – значительное содержание крахмала (насыщенная фиолетовая окраска).

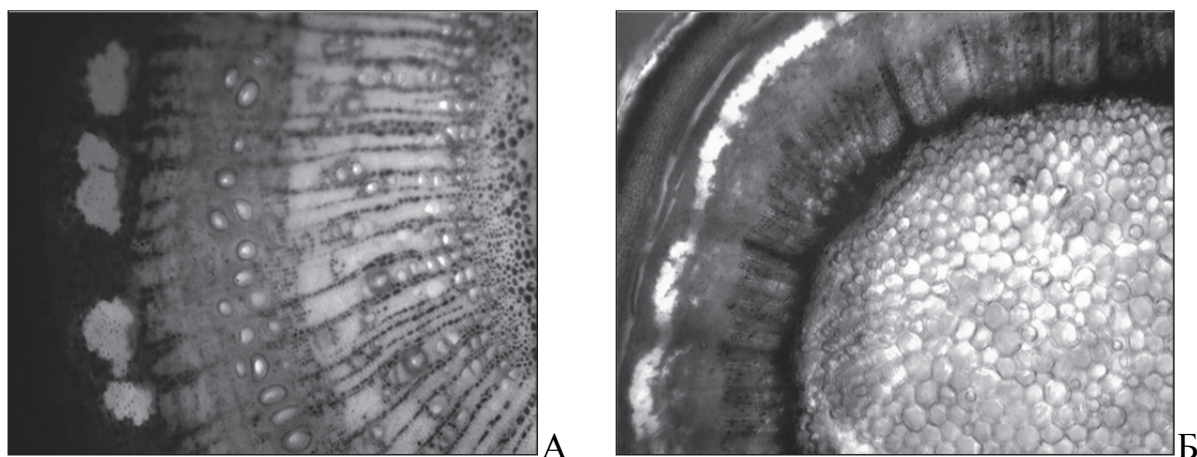


Рис. 3.3. Локализация крахмала в побегах
(снимки получены с применением цифровой камеры-окуляра DCM 130)
А – бархата амурского, Б – клена ясенелистного.

Таблица 3.22

Схема записи результатов гистохимических реакций

Вид растения	Реакция Люголя	Флороглюциновая реакция			Перманганатная реакция		
		Сердцевина	Древесина	Коровая паренхима	Сердцевина	Древесина	Коровая паренхима

Согласно полученным результатам делают соответствующие выводы: при высоком содержании лигнина и крахмала в осенний период вид можно отнести к морозоустойчивым, он хорошо подготовлен к зимнему периоду.

Лабораторная работа № 72. Влияние засоления почвы на рост и развитие растений

Техногенным источником солей, поступающих в почвы города, являются противогололедные материалы (ПМГ), используемые в зимний период. Номенклатура ПМГ представлена четырьмя основными группами, состав которых постоянно совершенствуется: 1) хлоридная: на основе хлоридов кальция, хлоридов магния, смеси хлоридов кальция и натрия, смеси хлоридов кальция, калия, натрия и магния; 2) ацетатная: на основе ацетата калия, ацетата аммония, различные ацетаты – кальция, магния и натрия; 3)

нитратная: на основе нитратов кальция, магния (натрия) и мочевины (карбамида); 4) формиатная: на основе формиата калия.

Максимальное засоление почв, как правило, происходит вдоль магистральных улиц и на некотором удалении от них в результате механической уборки снега. Концентрация солей в почве максимальна весной после таяния снега и минимальна осенью, вследствие промывания ее летними осадками и миграции солей по почвенному профилю.

По данным лаборатории солеустойчивости Института физиологии растений, в 1995 г. в Москве погибло 20 тыс. деревьев и кустарников. До 2001 г. основным реагентом, применяемым на дорогах Москвы, была техническая соль, состоящая на 97 % из NaCl. В настоящее время применяются более экологически безопасные реагенты: хлористый кальций модифицированный 28%-й концентрации, смесь хлористых солей кальция и натрия и др.

Экологическая характеристика ПМГ определяется в основном совместным воздействием аниона хлора и других катионов в составе солей, не содержащих хлор, на физиолого-биохимические процессы, рост, развитие и реакции растений.

Отрицательное воздействие солей на растения носит комплексный характер и включает две основные составляющие: осмотическую и токсическую. Осмотическое действие проявляется в пониженном поглощении воды и неблагоприятном изменении водно-солевого обмена в клетках и тканях. Дефицит воды в тканях может усугубляться токсичностью солей, когда ионы в избытке накапливаются в цитоплазме клеток.

Проявление токсичности может наблюдаться по образованию на листьях и стеблях некрозов, усыханию побегов уже в начале вегетации, сокращению длительности вегетации. Механизм стресса состоит в том, что при высоком содержании солей в почве происходит подщелачивание среды. В результате этого изменяется система питания растения, поступление питательных веществ в корни растений становится затруднительным. По мере аккумуляции солей жизнеспособность растений падает, и они становятся более восприимчивыми к вредителям и техногенным факторам.

Наиболее солеустойчивыми древесными растениями считаются платан, айлант, мажунда, саксаул черный, ясень зеленый и приречный, гледичия, робиния лжеакация, вяз перистоветвистый, лох узколистный, шелковица, дуб и др., а из кустарников – жимолость татарская, чингил, бирючина, аморфа, тамариск.

Наиболее чувствительным индикатором солевого загрязнения почв является липа мелколистная.

Оборудование и материалы

1. Стаканы на 100 мл.
2. Бритва.
3. Вода.
4. 20%-й раствор NaCl, Na₂SO₄, Na₂CO₃.
5. 1–2%-й раствор зеленого мыла или ОП-7, ОП-10.
6. Линейки.
7. Побеги древесных растений (липы, березы, клена и др.).

Ход анализа

Опыт имитирует поглощение растениями растворов из засоленных почв и изменения в их состоянии. При ухудшении водоснабжения растений под воздействием солей происходит деструкция хлоропластов, нарушается синтез хлорофилла, снижается интенсивность ростовых процессов.

Для проведения опыта берут не закончившие рост побеги древесных растений. Выдерживают их в воде 15 мин до их насыщения влагой, вынимают, обсушивают фильтровальной бумагой, обрабатывают смачивателем (1–2%-й раствор зеленого мыла или ОП-7, ОП-10). Роль смачивателя в естественной обстановке выполняют растворы некоторых солей, образующих ель, гуминовые и фульвокислоты, содержащиеся в эоловых переносах, а главное – выделения самих растений [Генкель П.А., 1954б; Федорова А.И., 2003].

После этого проксимальные концы подрезают бритвой. Измеряют длину побегов, подсчитывают число листьев, измеряют длину верхних растущих листьев.

Побеги помещают в пять сосудов: один с чистой водопроводной отстоянной водой (контроль) и четыре с растворами солей разной концентрации: 2,5; 5; 10; 20%-е. Отверстие сосуда изолируют фольгой во избежание испарения. Количество растворов во всех сосудах должно быть одинаковым. Сосуды с побегами помещают на семь дней в условия рассеянного освещения, избегая сильного нагревания.

На третьи и седьмые сутки учитывают следующие признаки: потеря тургора, изменение в окраске листьев (происходит выцветание вследствие разрушения хлорофилла и появления инфильтрационных пятен), появление некрозов, скручивание листьев. Кроме того, измеряют длину побегов и длину взятых под наблюдение верхних листьев, отмечают возможное появление новых листьев за счет разворачивания верхушечной почки.

После экспозиции побегов (на третьи и седьмые сутки) необходимо описать их состояние: определить степень и характер повреждения

листьев в процентах от общей площади листьев, изменение длины побегов. Сделать выводы о влиянии засоления на интенсивность ростовых процессов при сравнении с контрольным экземпляром.

Все результаты занести в таблицу 3.23 и сделать выводы о солеустойчивости разных видов растений.

Таблица 3.23

Влияние засоления на рост и повреждение побегов

Вид растения	Вариант опыта		Повреждения листовых пластинок, %		Первоначальная длина побега, см	Длина побега	
			3-й день	7-й день		3-й день	7-й день
	H ₂ O						
	% соли в растворе	20					
		10					
		5					
		2,5					
		1,25					

Лабораторная работа № 73. Определение устойчивости растений к выхлопным газам автомобильного транспорта методом фумигации

Автомобильный транспорт является одним из источников загрязнения атмосферного воздуха и почвы населенных пунктов. Концентрация токсичных компонентов в окружающей среде зависит от токсичности ДВС автомобилей, так как отработавшие газы изменяются в зависимости от типа двигателя и режимов его работы. В городских условиях низкая скорость движения и частые ее изменения, многократные торможения и разгоны способствуют повышенному выделению вредных веществ, что ярко выражено на светофорах, перекрестках и вблизи остановок транспорта.

При движении автотранспорта по полотну дороги воздушная среда придорожного пространства активно загрязняется отработавшими газами двигателей, испарениями топливной системы, отработавшими маслами, тяжелыми металлами. Основную долю загрязняющих веществ в газообразных выбросах ДВС карбюраторного типа составляет оксид углерода, а в выбросах дизельных двигателей - оксиды азота. Однако дизельные двигатели отличаются повышенной эмиссией твердых частиц, в частности сажи. Кроме того, дизельное топливо содержит большое количество серы – до 0,3 % [Кавтарадзе Д.Н. и др., 1999].

В состав основных компонентов выхлопов бензиновых двигателей входят (об. %): оксид углерода – 0,5–12,0; водород – 0,1–5,0; кислород – 0,3–8,0; азот – 74–77; оксиды азота – 0,001–0,8; пары воды – 3,0–5,5; уг-

леводороды – 0,2–3,0; диоксид серы – до 0,05 мг/м³; сажа – до 0,04 мг/м³; альдегиды – до 0,2 мг/м³; бенз(а)пирен – 10–20 мг/м³.

Данные компоненты, попадая в атмосферу, вступают в реакции, в результате которых образуются фотохимические оксиданты: озон (O₃), оксиды азота (NO_x) и пероксиацилнитраты (ПАН). Это происходит при наличии в атмосфере высокой концентрации первичных поллютантов, интенсивной солнечной радиации и безветрии или в условиях очень слабого обмена воздуха в приземном слое, при повышенной инверсии. Такие условия создаются чаще всего в июне – сентябре и реже зимой.

Загрязнение воздуха оказывает на растения угнетающее действие. Происходит депрессия роста функционально важных частей растений (например, уменьшение размера листьев, количества завязавшихся плодов и выхода древесины) вследствие снижения ассимиляции, потери зеленой массы из-за некроза или преждевременного опадения листьев, а также из-за нарушенного роста корневой системы в результате влияния попавших в почву токсических веществ.

Кроме того, газообразные токсиканты проявляют эмерджентные свойства и суммарный эффект их воздействия на растения иной (рис. 3.4), чем отдельно взятых компонентов выброса, особенно в приземном слое атмосферы на высоте до 2 м от поверхности.



Рис. 3.4. Воздействие отработавших газов на растения
[Кавтарадзе Д.Н. и др., 1999]

Из всех органов растения в первую очередь повреждаются ассимиляционные, так как по своему строению и функциональной роли именно листья в наибольшей степени приспособлены к газообмену. Поэтому наиболее распространенными показателями и поражения растений атмосферными загрязнителями являются визуально отмечаемые изменения ассимиляционных органов – разного рода хлорозы, некрозы, деформации.

Оборудование и материалы

1. Вакуумный насос (ручной или электрический).
2. Автомобильная резиновая камера, предварительно наполненная газами от выхлопной трубы карбюраторного двигателя с использованием автомобильного насоса.
3. Специально смонтированные стеклянные камеры (колбы на 1000 мл, резиновые пробки с двумя вмонтированными стеклянными пробками).
4. Резиновые шланги, зажимы лабораторные, стеклянные заглушки.
5. Пинцет.
6. Пластилин.
7. Фольга.
8. Вата.
9. Листья различных древесных растений.

Ход анализа

Определение газоустойчивости проводится путем искусственной фумигации (окуривания) листьев древесных растений выхлопными газами от автомобильного транспорта. Для проведения опытов использовались специально смонтированные герметичные стеклянные камеры объемом 1000 мл. Объектом фумигации служили одинаково развитые листья древесных растений (5–10 листьев в зависимости от их размера).

Порядок постановки опыта следующий. Листовые пластинки складывают черешками вместе, последние обертывают мокрой ватой, а затем фольгой (для сохранения у растений водообмена и фотосинтеза). Перед проведением опыта колбы желательно простерилизовать либо на водяной бане, либо в автоклаве.

На дно колб с помощью пинцета помещают образцы фольгой вниз, чтобы листья находились в вертикальном положении. Пробку закрывают и изолируют все отверстия для предотвращения доступа воздуха извне. На все рубки укрепляют зажимы и заглушки, камеру обертывают полотенцем во избежание ее растрескивания при работе со стеклянными емкостями, не предназначенными для вакуума.

Одну трубку присоединяют к насосу, вторую к автомобильной камере с выхлопными газами. С помощью насоса из колбы выкачивают воздух и создают вакуум (в среднем 30 прокачиваний). Затем трубку, идущую к насосу, зажимают зажимом и открывают трубку, идущую от

автомобильной камеры. Хорошо слышный хлопок показывает, что выхлопные газы вошли в колбу с образцом. Если хлопка не было, следует проверить герметичность стеклянной камеры и создать вакуум заново. Далее прокачивают газы через камеру с помощью насоса (в среднем 40 прокачиваний). После этого все трубки перекрывают зажимами и закрывают заглушками [Федорова А.И., 2003].

Колбы с образцами растений устанавливают на естественном или искусственном сильном свете, так как поглощение газов происходит в процессе фотосинтеза.

Альтернативный способ фумигации образцов выхлопными газами заключается в следующем. Колбу с образцом подготавливают аналогичным образом, что и в предыдущем варианте. Необходимо, чтобы шланги, отходящие от колбы, были длинные (не менее 1 м). Прокачивание проводят непосредственно на улице при наличии автомобиля с водителем. Для чего один шланг помещается в выхлопную трубу, а второй выводится в сторону. Во избежание опрокидывания колбы необходимо ее зафиксировать (поместить колбу в пластмассовое ведро с небольшим количеством песка). При увеличении оборотов двигателя будет происходить вытеснение воздуха и заполнение колбы выхлопными газами. Подобную прокачку осуществить в течение 5–10 мин, после чего быстро закрыть зажимы на шлангах и заглушки и одновременно прекратить газацию.

В обоих вариантах необходимо соблюдать осторожность во время фумигации во избежание отравления.

Наблюдения за образцами растений проводятся в течение 7 дней, в ходе которых отмечают следующие морфологические изменения: хлорозы, некрозы, потеря тургора, деформация листьев.

В качестве эталона для сравнения степени повреждения листовых пластинок используются контрольные растения, которые размещаются в сходных условиях освещения только без осуществления газации.

Целесообразность применения данной методики объясняется тем, что искусственное газирование срезанных растений является надежным методом определения их газоустойчивости, так как этот метод создает одинаковые условия испытания.

Степень повреждения листовых пластинок определяется визуально по шкале, приведенной в табл. 3.24. После экспозиции опытных образцов в течение 7 суток проводится обработка полученных результатов, для чего по следующей формуле (3.8) вычисляется интегральный балл повреждения (I_B):

$$I_B = \frac{\sum_i^n P_i}{n}, \quad (3.8)$$

где P_i – оценка степени повреждения, в баллах; $i = 1 \dots n$ – количество листьев (составлено автором на основе методических рекомендаций В.Б. Коробкова и Б.И. Кочурова, 2007).

На основе балльной оценки каждый вид относят к той или иной категории устойчивости.

Таблица 3.24

*Балльная оценка степени повреждения листовой пластинки
отработавшими газами ДВС (разработано авторами)*

Площадь поврежденных тканей от общей площади листа, %	Балл	Характеристика хлороза/некроза
<5	1	отсутствует
5–20	2	очень слабый
21–40	3	слабый
41–60	4	средний
61–80	5	сильный
81–100	6	очень сильный

Необходимо указать, что интегральный балл берется средний, так как для получения более достоверных результатов, определение газоустойчивости проводится в двукратной повторности (табл. 3.25).

Таблица 3.25

*Категории газоустойчивости древесных растений
(разработано авторами)*

Интегральный балл повреждения листовых пластинок (I_B)	Категория устойчивости растения к выхлопным газам автотранспорта
1–2	устойчивый
2,1–4	среднеустойчивый
4,1–6	неустойчивый

Лабораторная работа № 74. Оценка фитонцидной активности растений в пробе с простейшими

Явление фитонцидности отдельных растений впервые описал в 30-х годах XIX в. советский ученый Б.П. Токин. Ученым было обнаружено более 500 видов растений, обладающих фитонцидными свойствами. Фитонцидами называют образуемые растениями летучие защитные вещества, способные подавлять рост бактерий, грибов и простейших. Например, фитонциды дуба и можжевельника активно уничтожают воз-

будителей брюшного тифа, фитонциды черемухи и рябины токсичны для вредных насекомых и червей, кожица чесночной луковицы убивает холерных вибрионов и туберкулезную палочку. Высокими фитонцидными свойствами против белого стафилококка обладают акация белая, барбарис обыкновенный, дубы черешчатый, болотный и красный, туя западная, осина, тис, сосна обыкновенная, лиственница сибирская, тополь туркестанский. Во всех случаях хвойные насаждения обладают более бактерицидными свойствами, чем лиственные (в сосновом лесу в 2 раза меньше вредоносных бактерии, чем в лиственном). Б.П. Токин установил, что 1 га можжевельниковых насаждений может за сутки выделить 30 кг летучих фитонцидов.

Выделение растениями летучих веществ зависит от многих факторов. Наиболее активно выделяются фитонциды в период вегетации (май–август), особенно во второй половине дня. В осеннее время выделение уменьшается, а в период глубокого покоя практически отсутствует. В отличие от лиственных хвойные насаждения продолжают выделять фитонциды и зимой. Наибольшее количество летучих веществ выделяют молодые органы растений. В пасмурную и дождливую погоду фитонцидность уменьшается, а в теплую солнечную – усиливается. Фитонцидные свойства растений и их проявление в разных метеорологических условиях следует учитывать при озеленении городских территорий, особенно мест массового отдыха, санаторно-курортных зон, лечебных учреждений.

Оборудование и материалы

1. Микроскоп.
2. Предметные и покровные стекла.
3. Часовые стекла.
4. Пипетки.
5. Маленькие ступки с пестиками.
6. Свежие листья растений (тополей, черемухи, хвойных).
7. Сенной настой или вытяжка из плодородной почвы.

Ход анализа

Для проведения опытов необходимо предварительно приготовить культуру микроорганизмов одним из следующих способов.

А. Измельченное сено заливают водой, кипятят 10–15 мин, охлаждают, настаивают 2–3 суток до образования бактериальной пленки. Добавляют 1–2 мл воды из водоема, аквариума или комочек свежей почвы. Выдерживают в термостате 1–2 суток.

Б. Листья капусты отваривают 5–10 мин, отвар сливают, охлаждают, в него помещают небольшой комочек почвы. Выдерживают в термостате 1–2 суток.

В. Комочек почвы взбалтывают с водой в небольшой емкости, закрывают плотно бумагой, выдерживают в термостате 1–2 суток [Федорова А.И., 2003].

Следует отметить, что в размножении простейших существуют циклы. Они хорошо размножаются весной и летом, хуже – осенью, плохо – зимой. Кроме того, даже при хорошем их размножении в вышеуказанные периоды они прекращают движение в холодном лабораторном помещении (температура ниже +18–20 °С), особенно при соприкосновении с холодным предметным стеклом.

Последовательность определения фитонцидной активности растений следующая. С помощью пипетки нанести на предметное стекло несколько капель культуры простейших и накрыть покровным стеклом. Просмотреть препарат сначала под малым, а затем под большим увеличением. При этом наблюдаются разнообразные виды простейших организмов и их активное движение в капле раствора.

Далее готовят кашицу из листьев (хвои) растений. Для этого в керамической ступке растирают исследуемое растение, предварительно его мелко нарезав. Если листья плохо растираются вследствие твердости, в ступку нужно добавить небольшое количество дистиллированной воды (или небольшое количество битого стекла). С помощью марли отжимают сок растения и добавляют под покровное стекло, на котором находится культура микроорганизмов.

Возможен и другой вариант. Для этого сок растений помещают на часовое стекло, а предметное стекло с культурой простейших помещают над ним и наблюдают за движением микроорганизмов (рис. 3.5).

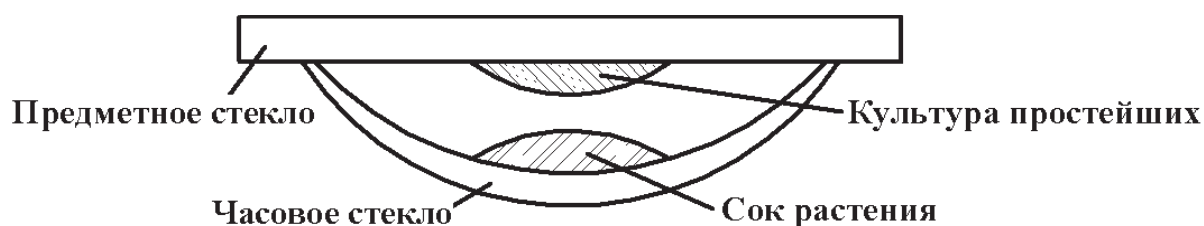


Рис. 3.5. Висячая капля культуры простейших

Наблюдения за жизнедеятельностью простейших фиксируют по степени их подвижности, а также гибели (картина гибели простейших под влиянием фитонцидов разных растений различна – растворение (лизис), образование вздутий и пузырей, сморщивание, прекращение движения и др.). По секундомеру отмечают время прекращения их движения или гибель и по формуле (3.9) рассчитывают фитонцидную активность (А):

$$A = \frac{100}{T}, \quad (3.9)$$

где Т – время.

Для получения достоверных данных повторность опыта трехкратная.

Все результаты заносят в табл. 3.26 и строят ряд видов древесных растений в зависимости от их фитонцидной активности.

Таблица 3.26

Схема записи результатов

Вид растения	Время гибели простейших, сек	Фитонцидная активность (А)

Лабораторная работа № 75. Оценка жизненного состояния древесных растений по комплексу морфологических изменений

Морфологические изменения растений являются хорошими индикаторными признаками загрязнений окружающей среды. Макроскопические реакции семенных растений на различные стрессоры проявляются, прежде всего, в изменении окраски листьев, к которым относятся хлорозы, пожелтение, побурение, побронзовение, посеребрение листьев, изменение тургора (листья, как будто пропитанные водой) и др.

Хлороз выражается в побледнении окраски листьев между жилками при слабом воздействии газообразных веществ и наблюдается при антропогенном загрязнении, а также, например, у растений на отвалах, остающихся после добычи тяжелых металлов. Выделяют хлороз краевой и межжилковый (при интенсивном проявлении образуется так называемый «рыбий скелет»). Пожелтение краёв или определённых участков листьев происходит у лиственных пород под влиянием хлоридов, при авиаобработках культур пестицидами. Побурение или побронзовение у лиственных пород часто является начальной стадией тяжелых некротических повреждений. Изменения окраски, при которых листья производят впечатление как бы пропитанных водой, а также появление серебристой окраски представляют собой первые стадии некрозов. Они сходны с морозными повреждениями.

Некроз – омертвление участка тканей растений, чаще всего это отмирание листьев под влиянием загрязняющих веществ. Положение на растении и цвет некроза иногда позволяют сделать заключение о степени и виде воздействия. Принято различать: а) краевой некроз – отмирание ткани по краям листа; б) межжилковый некроз – отмирание листовой пластинки между боковыми жилками первого порядка; в) точечный и пятнистый некрозы – отмирание тканей листа в виде точек и небольших пятен, рассыпанных по всей поверхности листа; г) верхушечный некроз – повреждение кончиков хвои и листьев [Вайнерт Э. и др., 1988].

Существует ряд методик, позволяющих оценить жизненное состояние древесных растений. Так, в лесном хозяйстве страны применяется метод визуальной оценки состояния деревьев по сумме основных биоморфологических признаков, какими являются густота кроны, ее облиственность или охвоенность, суховершинность или наличие и доля сухих ветвей в кроне, и т. д. При этом Санитарные правила в лесах Российской Федерации (2005) предусматривают 6 категорий состояния деревьев для хвойных и лиственных пород.

Весьма распространенной является методика определения относительного жизненного состояния древостоев, разработанная В.А. Алексеевым (1989). Оценка состояния деревьев базируется на неспецифических реакциях деревьев (изменение облиственности кроны, усыхание ветвей, хлорозы, некрозы и т.д.), возникающих при конкурентных отношениях растений и воздействии тех или иных абиотических и биотических стрессоров.

М.Д. Уфимцевой и Н.В. Терехиной (2005) разработан эколого-фитоиндикационный экспресс-метод оценки экологического состояния городской среды, использующий количественное соотношение биологических реакций (биогеохимические эндемии, паразитарные повреждения листовой поверхности, дефолиация и т.п.), отражающих жизненность и устойчивость видов древесно-кустарниковых пород к загрязнению.

Следует отметить, что визуальная оценка состояния насаждений широко применяется при решении многих задач. Это мониторинг состояния насаждений; выявление видов насаждений, наиболее адаптированных к произрастанию в сложных экологических условиях; оценка долговечности древесных растений в городских условиях; контроль приживаемости растений на объектах озеленения и т.д. Однако большинство вышеназванных методик основано на лингвистических шкалах, что вносит заложенную в них нечеткость в процесс оценки и дальнейшей обработки полученных результатов. Нечеткость возникает всегда, когда при описании объекта используются слова естественного языка. Даже высококвалифицированный специалист не всегда может с полной уверенностью отнести оцениваемое растение только к одной категории состояния. Специфика оценки на основе лингвистической шкалы не позволяет применить к полученным результатам методы традиционного математического аппарата [Полещук О.М., 2003]. В связи с этим нами рекомендуется для оценки состояния деревьев использовать общепринятую методику, применяемую для мониторинга лесов европейской части России по программе ICP-Forests (методика ЕЭК ООН).

Оборудование и материалы

1. Мерная вилка.
2. Эклиметр.
3. Мел.

4. Миллиметровая бумага.
5. Ножницы.
6. Линейки.

Ход анализа

Важнейшими биоиндикационными признаками повреждения деревьев являются дефолиация и дехромация крон деревьев. Дехромация – изменение цвета хвои или листьев в результате воздействия неблагоприятных природных и антропогенных факторов. Пожелтение или побурение ассимиляционного аппарата деревьев могут вызвать самые разные причины (загазованность, нарушение режима питания, вредители, болезни, старение хвои или листвы, заморозки, засухи и ряд других). Таким образом, фиксируются хлорозы, некрозы, изменения формы листовых пластинок.

Дефолиация – частичное или полное опадение листвы (хвои), как правило, в зеленом состоянии под воздействием неблагоприятных факторов.

Таблица 3.27

*Комбинированные классы повреждения деревьев
[Методика организации..., 1995]*

Степень дефолиации кроны, %	Степень дехромации (изменения окраски хвои или листьев), %			
	< 10	11–25	26–60	61–99
< 10	0	0	1	2
11–25	0	1	2	2
26–60	1	2	3	3
61–99	2	3	3	3
100	4	4	4	4

При оценке дефолиации следует обращать внимание и на толщину сучьев: толстые сучья обычно более редкие, поэтому крона кажется более ажурной, что может привести к завышению степени дефолиации. Учет светового фактора в структуре полога и класса деревьев всегда надо иметь в виду при отнесении к той или иной степени повреждения по дефолиации, сучковатости, наличию сухих сучьев. Дефолиация определяется с 5–10%-й точностью для верхней 1/3 части кроны и для всей кроны [Методика организации..., 1995; Manual on methods..., 1998].

Оценка дефолиации и дехромации производится с помощью бинокля (при его наличии) с разных сторон дерева. Дехромация точнее определяется в солнечную погоду. Запрещается определять дехромацию против солнца.

На основе показателей дехромации и дефолиации формируют интегральные классы повреждения деревьев (табл. 3.27). Выделяют пять

классов жизненного состояния, каждому из которых присваивается балл (0 – здоровое дерево, 1 – ослабленное, 2 – сильно ослабленное, 3 – отмирающее, 4 – сухостой). Согласно вышеуказанной методике европейского мониторинга лесов, интегральным классам повреждения деревьев соответствуют величины дефолиации и дехромации крон деревьев, приведенные в таблице.

Для оценки жизненного состояния древостоев применяется индекс состояния (3.9), представляющий собой средневзвешенный класс повреждения составляющих древостой деревьев:

$$I = \frac{\sum_{i=0}^4 i \cdot w_i}{W}, \quad (3.9)$$

где i – номера классов повреждения деревьев, баллы; w_i – количество деревьев i -го класса повреждения в данном насаждении; W – общее число деревьев.

По величине индекса состояния древостои классифицируются на следующие категории: здоровые (0–0,5), ослабленные (0,6–1,5), сильно ослабленные (1,6–2,5), усыхающие (2,6–3,5), сухостой ($> 3,6$) [Алексеев А.С., 1997].

Оценка жизненного состояния древесных растений проводится в полевых условиях с записями всех результатов в сводную ведомость. Кроме того, необходимо измерять диаметр деревьев на высоте 1,3 м (на высоте груди) с помощью мерной вилки и высоту с помощью эклиметра. Измеренным экземплярам присваивают порядковый номер.

В камеральных условиях вычисляют средневзвешенный класс повреждения деревьев и делают соответствующие выводы.

Таблица 3.28

Оценка жизненного состояния древесных растений

№ п/п	Вид растения	Высота, м	Диаметр, см	Класс жизненного состояния, балл

Лабораторная работа № 76. Диагностика нарушений показателей водного режима древесных растений под влиянием внешних факторов среды гравиметрическими методами

В городских условиях наблюдается заметное ухудшение водного режима растений. Загрязнение почв, высокая плотность коммунальных сооружений, расположенных в корнеобитаемом слое, поверхностный сток, широкое распространение насыпных грунтов, уплотнение почв в

результате рекреационной нагрузки приводят к снижению доступной влаги для растений, снижению аэрации и скорости фильтрации воды, затруднению распространения корней.

На улицах из-за асфальтового покрытия большая часть влаги атмосферных осадков теряется для растений, поступая в канализационную систему, либо испаряется из-за сильного перегрева поверхностей. Поэтому насаждения улиц городов, особенно в жаркие и сухие дни, часто испытывают недостаток влаги [Горышина Т.К., 1991].

Водный баланс растения определяется разностью между поглощением воды и ее расходом:

Водный баланс = Поглощение воды – Транспирация.

Транспирация рассматривается здесь как статья расхода водного баланса, а не как физический процесс. Водный баланс остается уравновешенным только в том случае, если поглощение и расходование воды гармонично согласованы друг с другом. Он становится отрицательным, как только поступление воды перестает покрывать ее потерю в результате транспирации.

В открытом грунте возникают большие методические трудности при определении поглощения воды, поэтому предпочитают определять баланс косвенно, по его влиянию на содержание воды или на ее состояние в растении. Отрицательный водный баланс всегда проявляется в уменьшении оводненности тканей и водного потенциала в них. Эти изменения наступают сначала в листьях – местах самого сильного испарения и к тому же органах, наиболее удаленных от корней, вследствие чего ткани листовых пластинок – признанные индикаторы состояния водного баланса.

Для оценки водного баланса рекомендуется определять следующие характеристики водного режима древесных растений: общее содержание воды (оводненность), водный дефицит, относительная тургесцентность.

В рамках экологических исследований целесообразно применять весовые (гравиметрические) методы по причине их методической простоты, однозначности интерпретации получаемых результатов, экономической выгоды. Измерение содержания воды в тканях чаще всего проводят на листовых пластинках [Чекалин С.В., 1987].

Оборудование и материалы

1. Сушильный шкаф.
2. Термометр.
3. Пинцет.
4. Стаканы с водой.
5. Эксикатор.
6. Технохимические весы.
7. Бюксы.

8. Свежие листья древесных растений.

Ход анализа

1. Общее содержание воды или оводненность. О водной насыщенности клетки, а следовательно, о функциональном состоянии растений дают представление данные о содержании общего количества воды в различные сроки вегетации. Поэтому общее содержание воды в листьях или оводненность используется в качестве важного показателя водобмена растений. Выражают её двумя способами: на сырую и на сухую массу образца. В первом случае оводненность показывает, сколько единиц массы воды приходится на единицу сырой массы образца тканей (3.10).

$$Q_F = \frac{W_f - W_d}{W_f} \cdot 100 \% . \quad (3.10)$$

Во втором – сколько единиц приходится на единицу сухой массы образца (3.11):

$$Q_D = \frac{W_f - W_d}{W_d} \cdot 100 \% , \quad (3.11)$$

где Q_F , Q_D – оводненность в процентах на сырую и сухую массу образца соответственно; W_f – реальная сырая масса образца до насыщения водой; W_d – воздушно-сухая масса образца тканей.

Оба типа оводненности взаимосвязаны. Значение степени оводненности тканей имеет огромное значение при оценке жизненного состояния растений и их засухоустойчивости.

Однако определение этих показателей имеет свои недостатки. Сырой вес растений быстро изменяется даже за короткий промежуток времени в течение одного дня. В результате сильных изменений содержания воды на единицу растительной ткани процент сырого веса меняется мало. Поскольку сухой вес тканей изменяется в результате фотосинтеза, дыхания и передвижения веществ, выражать влажность в процентах от сухого веса также бывает затруднительно [Слейчер Р., 1970; Чекалин С.В., 1987]. Поэтому необходимо учитывать эти недостатки при изучении водного режима растений.

2. Водный дефицит – производный показатель, входящий в систему гравиметрически определяемых параметров водного обмена растений. О. Stocker (1929) предложил формулу (3.12) для расчёта водного дефицита (дефицита водного насыщения) растительных тканей:

$$W_D = \frac{W_t - W_f}{W_t - W_d} \cdot 100 \% , \quad (3.12)$$

где W_D – водный дефицит; W_t – масса образца ткани при полном насыщении его водой или при полной тургесцентности.

Водный дефицит – действительное количество воды в тканях растения, выраженное в процентах от количества при полном тургоре [Слейчер Р., 1970]. Для его определения О. Stocker разработал специальную методику, сущность которой заключается в том, что срезанные листья тщательно взвешивают и помещают в сосуды-камеры. Черешки погружают в воду. Листья держат в камере до приобретения полной тургесцентности (до 2-3 суток).

Затем их вынимают и снова проводят взвешивание для определения W_t . Следующий этап – высушивание образца до абсолютно сухого веса. Описание данной методики приведено во многих работах отечественных ученых [Веретенников А.В., 1993; Вигоров Л.И., 1961].

3. Относительное содержание воды или относительная тургесцентность. Р.Е. Weatherly предложил методику определения относительного содержания воды или относительной тургесцентности (W_R). Данный параметр и водный дефицит выражаются в процентах и в сумме равняются 100 %. Относительная тургесцентность (3.13) показывает степень близости фактического состояния водного обмена к состоянию оптимума, соответствующего полному насыщению тканей водой [Чекалин С.В., 1987].

$$W_R = \frac{W_f - W_d}{W_t - W_d} \cdot 100 \% . \quad (3.13)$$

Когда потребление и потеря воды у растения сбалансированы, относительное содержание воды поддерживается на постоянном уровне. Например, у большинства мезофитов, W_R составляет 85–95 %.

Критическое значение данного показателя зависит от вида растения и ткани (для тканей мезофитов в среднем около 50 %).

Водный дефицит и относительная тургесцентность ткани служат показателями напряженности водного режима растения. П. И. Крамер и Т. Т. Козловский (1983) отмечают, что сравнение количества воды в растении в полевых условиях с количеством воды при полном тургоре будет являться хорошим индикатором внутреннего водного баланса растений.

Апробирование различных методик позволило разработать схему определения параметров водного режима древесных растений (рис.3.6).

По мере проведения лабораторной работы записывают результаты в таблицу. Показатели Q_F , Q_D , W_D , W_R рассчитываются по соответствующим формулам (3.10 – 3.13).

Далее проводят сравнительную оценку параметров водного режима растений в различных условиях произрастания и между отдельными видами, указывают наиболее высокие значения водного дефицита.

Сделайте соответствующие выводы.

Отбор образцов	1. С выбранных типичных для исследуемых видов деревьев берутся пробы листьев со средней части кроны и с принятой для всех деревьев стороны (в наших исследованиях юго-восточной). Листья отбираются со средних частей, примерно с одинаковых по длине побегов, одинаковые по месту их положения на побеге, как наиболее выровненные по стойкости, и срезаются примерно с одинаковой длины черешком (согласно рекомендациям Г.Н. Еремеева, 1963)
Подготовка проб	2. Образцы в целлофановых пакетах в целях избегания потерь воды в кратчайшее время транспортируются в лабораторию. На весах взвешиваются пробы по 5 ± 2 г в зависимости от размера листовых пластинок. Повторность – трехкратная. Получают массу сырого образца (W_f)
Донасыщение листьев водой	3. Затем листья завертывают в сырую фильтровальную бумагу и помещают во влажную камеру (эксикатор с дистиллированной водой вместо поглотителя), где их выдерживают в течение 4 часов до максимального насыщения клеток водой. Затем образцы вынимают, быстро обсушивают фильтровальной бумагой и снова взвешивают. Получают массу листьев при полном насыщении их водой или полной тургесцентности (W_t)
Высушивание образцов	4. Бюксы с пробами помещают в сушильный шкаф и высушивают при температуре 105°C до постоянного веса. Снова взвешивают и получают воздушно-сухую массу образца (W_d)

Рис. 3.6. Схема определения параметров водного режима древесных растений

Таблица 3.29

Показатели водного режима растений

Вид растения	Место расположение точек отбора образцов	$W_f, \text{ г}$	$W_t, \text{ г}$	$W_d, \text{ г}$	$Q_F, \%$	$Q_D, \%$	$W_D, \%$	$W_R, \%$

Лабораторная работа № 77. Оценка загрязнения окружающей среды тяжелыми металлами по накоплению их в растениях с помощью гистохимических реакций

Изучение накопления тяжелых металлов в растениях важно как для оценки состояния самого растения, так и для биосферы в целом в плане понимания процессов круговорота веществ, а также для научной и практической работы по экологическому мониторингу в связи с углублением процессов техногенеза.

Пути поступления тяжелых металлов в растения разнообразны, основные из них – корневой и фоллиарный. Различия концентраций тяжелых металлов в разных надземных органах (листьях, стеблях, плодах), может быть связано с видоспецифичностью метаболизма растений и со свойствами самих элементов. Характер распределения элементов по органам и тканям изменяется в течение онтогенеза. Установлено, что на незагрязненных почвах наименьшее количество тяжелых металлов свойственно органам запасаания [Ильин В.Б., 1991].

Техногенное поступление тяжелых металлов в биосферу связано с разнообразными источниками. К важнейшим из них относятся следующие: карьеры и шахты по добыче полиметаллических руд; предприятия цветной и черной металлургии; электростанции, сжигающие уголь; сжигание различных отходов; металлообрабатывающие предприятия; автотранспорт; минеральные и органические удобрения, сточные воды и отходы животноводческих комплексов [Прохорова Н.В., 1998].

Среди тяжелых металлов 13 металлов (Be, Al, Cr, As, Se, Ag, Cd, Sn, Sb, Ba, Hg, Te, Pb) токсичны во всех своих водо-, щелоче-, кислоторастворимых соединениях. Среди них группу неорганических экотоксиканов возглавляют кадмий, свинец и ртуть.

Повышенное содержание свинца вызывает функциональные нарушения в пигментных комплексах и уменьшение содержания хлорофилла в тканях. У растений под влиянием свинца угнетаются ростовые процессы, снижается содержание витамина С и провитамина А.

Кадмий негативно влияет на рост и развитие растений. Содержание кадмия в растениях зависит от концентрации его подвижных форм в почве. Установлено, что корневой барьер снижает поступление кадмия в листья, причем этот эффект сильнее проявляется на черноземах.

Свинец и кадмий обладают мутагенным, канцерогенным и терратогенным действием и поступают в организм человека и животных в основном из растительной пищи.

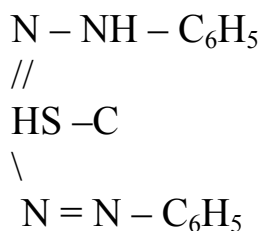
Оборудование и материалы

1. Микроскоп (при наличии с цифровой камерой-окуляром DCM 130).

2. Предметные и покровные стекла.
3. Дистиллированная вода.
4. Дифенилтиокарбазон, или дитизон (навеску дитизона (3 мг) растворяют в 6 мл ацетона, добавляют 2 мл дистиллированной воды и 1-2 капли ледяной уксусной кислоты, так как в слабокислой среде реакция более специфична).
5. 0,003 М раствор металлоиндикатора 4-(2-пиридилазо)-резорцина (ПАР) в 0,05 М растворе буры ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$, pH от 9,8 до 10,4).
6. Бритва или микротом.
7. Пипетки.
8. Побеги последнего года различных видов древесных растений.

Ход анализа

Реакция с дитизоном. Дитизон представляет собой черно-фиолетовые кристаллы, растворимые во многих органических растворителях и образующие в присутствии металлов (Fe, Zn, Cu, Pb, Cd, Ni, Co и др.) окрашенные в оттенки красного разной насыщенности, не растворимые в нейтральных и кислых водных растворах соли – дитизонаты.



Раствор дитизона готовится непосредственно перед использованием, поскольку не подлежит хранению [Сергеев И.В., 1997].

С помощью бритвы делают несколько продольных срезов побегов древесных растений и помещают их на предметное стекло. Затем наносят 3–4 капли дитизона, накрывают покровным стеклом и через несколько минут рассматривают под микроскопом. Наличие красного окрашивания свидетельствует о присутствии тяжелых металлов.

Реакция с ПАР. 4-(2-пиридилазо)-резорцин с ионами кадмия и свинца дает комплекс, окрашенный в красный цвет. Кроме того, это соединение является комплексометрическим индикатором для определения бария, ванадия, германия, железа, индия, таллия и циркония.

С помощью бритвы делают поперечные срезы побегов древесных растений и помещают на предметное стекло. Добавляют 2–3 капли раствора ПАР и накрывают покровным стеклом, после чего рассматривают под микроскопом и отмечают наличие окрашенных участков.

В ходе проведения гистохимических реакций отмечают степень окрашивания срезов по балльной шкале в зависимости от интенсивности красного цвета, а также локализацию в разных участках побегов свинца

и кадмия. Данные заносятся в табл. 3.30 и формулируются выводы о содержании тяжелых металлов у разных видов древесных растений.

Таблица 3.30

Гистохимические реакции на тяжелые металлы

Вид растения	Степень окрашивания срезов в реакции	
	с дитизоном	с ПАР

Лабораторная работа № 78. Влияние солей тяжелых металлов на коагуляцию растительных и животных белков

Соли тяжелых металлов в водной среде распадаются на ионы. Все ионы металлов могут быть разделены на две группы: биогенные (Cu, Zn, Mg, Co, Fe и др.) и небιοгенные (Pb, Hg, Ni, Al, Cd, Sr, Cs и др.). Среди последней группы ионы стронция и цезия действуют как биогенные при замене в органических веществах кальция на стронций и калия на цезий.

Биогенные ионы входят в состав ферментных систем, которые обеспечивают регуляцию всех процессов в клетке и организме, поэтому их ПДК значительно выше, чем у небιοгенных. При поступлении в растения воздушным (через устьица) или капельным (роса, туман, слабые осадки) путями определенная доза биогенных тяжелых металлов включается в состав ферментов, участвующих в процессах темновых реакций фотосинтеза, способствует поглощению других элементов; цинк входит в состав ферментов, расщепляющих белки, увеличивает устойчивость растений к жаре, засухе, болезням. Лишь при более высоких концентрациях они действуют как токсиканты.

Оборудование и материалы

1. Пробирки (16 шт.).
2. Пузырьки из-под пенициллина (8 шт.).
3. Стаканчик.
4. Пипетка на 1 мл.
5. Пипетка аптечная.
6. Фильтровальная бумага.
7. 5%-й раствор CuSO_4 .
8. 5%-й раствор $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$.
9. Дистиллированная вода.
10. Растительный белок (зерновой вызревший горох перемолоть в муку, развести в соотношении: 10 г гороховой муки на 50 мл 10%-го раствора NaCl или KCl , профильтровать).
11. Животный белок (у куриного яйца отделить белок, размешать его в дистиллированной воде в соотношении 1:10).

Ход анализа

Приготовить в пузырьках из-под пенициллина серию растворов сульфата меди и нитрата свинца. Для этого берется 1 мл исходного 5%-го раствора соли и путем разбавления дистиллированной водой готовят растворы с концентрациями 2,5; 1,25; 0,62 %. Далее в 8 пробирок пипеткой вносят по 1 мл растительного белка, а в другие 8 – по 1 мл животного белка.

В каждую пробирку необходимо добавить по 2–3 капли одного из указанных растворов соли с определенной концентрацией. Рассмотреть характер коагуляции на темном фоне.

Степень коагуляции растительного и животного белков определяют условно в процентах от общего объема раствора, кроме того, отмечается характер коагуляции (помутнение, хлопьевидная взвесь, осадок и т.п.), все результаты заносят в табл. 3.31.

Таблица 3.31

Степень коагуляции растительного и животного белков под влиянием солей тяжелых металлов

Название соли	Концентрация раствора			
	5 %	2,5 %	1,25 %	0,62 %
	Растительный белок			
CuSO ₄				
Pb(NO ₃) ₂				
	Животный белок			
CuSO ₄				
Pb(NO ₃) ₂				

Определяют концентрацию соли, при которой происходит коагуляция (при разном виде солей и при разном типе белков).

Делают выводы о том, какая соль (свинца или меди) сильнее действует на растительный и животный белки.

Лабораторная работа № 79. Определение нитратов в различных овощных культурах в зависимости от вида, сорта, органа, ткани

Нитраты – соли азотной кислоты (NaNO₃, KNO₃, NH₄NO₃, Mg(NO₃)₂). Они являются нормальными продуктами обмена азотистых веществ любого живого организма.

Азот – это один из наиболее важных химических элементов в жизни растений, потому что он необходим для образования аминокислот, из которых состоят белки. Растение получает азот из почвы в виде минеральных азотных солей (нитратных и аммиачных). Метаболизм азота в

растениях – это сложный процесс, и нитраты занимают в нём промежуточное положение.

В то же время, в связи с применением в больших масштабах азотных удобрений, поступление неорганических соединений азота в растения возрастает. Избыточное потребление азота не только ведет к аккумуляции нитратов в растениях, но и способствует загрязнению водоемов и грунтовых вод остатками удобрений, в результате чего территория загрязнения сельхозпродукции нитратами расширяется. Однако накопление нитратов в растениях может происходить не только от переизбытка азотных удобрений, но и при недостатке других их видов (фосфорных, калийных и др.) путем частичной замены недостающих ионов нитрат-ионами при минеральном питании, а также при снижении у ряда растений активности фермента нитратредуктазы, превращающего нитраты в белки.

Содержание нитратов в разных частях растений неодинаково. Больше всего нитратов в тех частях растения, которые содержат большое количество тканей, служащих для проведения воды и минеральных солей к листьям и органам (ксилемные ткани). В жилках листьев, листовых черешках, стеблях, корнях нитратов больше, чем в листьях и плодах; в кожице и поверхностных слоях плодов они преобладают над внутренними слоями; в генеративных органах эти вещества отсутствуют или имеются в меньших количествах, чем в вегетативных. Так, у капусты наружные листья кочана содержат в 2 раза больше нитратов, чем внутренние. А в жилке листа и кочерыжке содержание нитратов в 2–3 раза больше, чем в листовой пластинке. У кабачков, огурцов и т.п. плодов нитраты убывают от плодоножки к верхушке. В свекле больше нитратов в верхней части корнеплода, а в моркови также и в его сердцевине. Выяснено также, что у всех овощей и плодов больше всего содержатся нитраты в их кожице.

По способности накапливать нитраты овощи, плоды и фрукты делятся на 3 группы:

1) с высоким содержанием (до 5000 мг/кг сырой массы): салат, шпинат, свекла, укроп, листовая капуста, редис, зелёный лук, дыни, арбузы;

2) со средним содержанием (300–600 мг): цветная капуста, кабачки, тыквы, репа, редька, белокочанная капуста, хрен, морковь, огурцы;

3) с низким содержанием (10–80 мг): брюссельская капуста, горох, щавель, фасоль, картофель, томаты, репчатый лук, фрукты и ягоды.

Накопление нитратов в растениях зависит от многих причин.

1. От биологических особенностей самих растений и их сортов. Так, сорта моркови «шантанэ», «пионер» отличаются низким содержанием нитратов, а «нантская», «лосиноостровская» – высоким. Зимние сорта капусты мало накапливают нитратов по сравнению с летними. Содержание

нитратов зависит и от возраста растений: в молодых органах их больше (кроме шпината и овса). Меньше накапливается нитратов в гибридных растениях. Нитратов больше в ранних овощах, чем в поздних.

2. От режима минерального питания растений. Так, микроэлементы (особенно молибден) снижают уровень нитратов в редисе, редьке и цветной капусте; цинк и литий – в картофеле, огурцах и кукурузе. Содержание нитратов возрастает сильнее при использовании нитратных удобрений, чем при употреблении аммонийных.

3. От факторов окружающей среды (температуры, влажности воздуха, почвы, интенсивности и продолжительности светового освещения). Так, чем длиннее световой день, тем меньше нитратов накапливается в растениях. Нормальная освещённость растений снижает содержание нитратов, поэтому в тепличных растениях нитратов больше.

Допустимые нормы нитратов (по данным ВОЗ) составляют 5 мг на 1 кг массы тела взрослого человека, то есть 0,25 г на человека весом в 60 кг. Для ребёнка допустимая норма не более 50 мг. Сравнительно легко человек переносит дневную дозу нитратов в 15–200 мг; 500 мг – это предельно допустимая доза (600 мг – уже токсичная доза для взрослого человека). Для отравления грудного малыша достаточно и 10 мг нитратов.

У животных и человека высокие дозы нитратов могут вызвать отравление и даже привести к смерти. Токсическое действие нитратов связано с тем, что нитраты, превратившись в желудочно-кишечном тракте в нитриты, попадают в кровь и окисляют двухвалентное железо гемоглобина в трехвалентное. При этом образуется метгемоглобин, не способный переносить кислород к тканям и органам, в результате чего человек испытывает кислородную недостаточность. В желудочно-кишечном тракте избыточное количество нитратов под действием микрофлоры кишечника превращается в токсичные нитриты, а далее возможно превращение их в нитрозоамины – сильные канцерогенные яды, вызывающие опухоли. В связи с этим при употреблении в пищу растений – накопителей нитратов важно нитраты разбавлять и употреблять в малых дозах. Содержание нитратов можно уменьшить вымачиванием, кипячением продуктов (если отвар не используется), удалением тех частей, которые содержат большое количество нитратов.

Оборудование и материалы

1. Ступки малые с пестиками.
2. Предметные стекла.
3. Марлевые салфетки.
4. Небольшие пузырьки с пробками («пенициллинки»).
5. Пипетки химические на 5 мл.
6. Пипетки медицинские.
7. Скальпели.

8. 1%-й раствор дифениламина в концентрированной серной кислоте (1 г дифениламина растворяют в 99 г концентрированной H_2SO_4).

9. Исходный раствор NaNO_3 для построения калибровочной шкалы (411 мг NaNO_3 растворить в 100 мл дистиллированной воды).

10. Дистиллированная вода.

11. Термостойкий химический стакан на 0,5–1 л для кипячения овощей.

12. Электроплитка.

13. Части различных овощей, содержащих наибольшее количество нитратов, с неокрашенным соком (капуста, огурцы, кабачки, картофель, редис и др.).

Ход анализа

В один из пузырьков наливают 10 мл исходного раствора NaNO_3 , соответствующего по концентрации максимальному содержанию нитратов в овощах – 3000 мг/кг. Следует отметить, что в отдельных органах растений встречаются и значительно большие концентрации.

Готовят серию калибровочных растворов путем разбавления пополам предыдущего (например, к 3 мл исходного раствора прибавляется 3 мл дистиллированной воды, взбалтывается и т.д.). Получают серию растворов с разным содержанием нитратов: 3000, 1500, 750, 375, 188, 94, 47, 23 мг/кг.

Под предметное стекло подкладывается лист белой бумаги, на стекло капают две капли изучаемого раствора и две такие же капли дифениламина в трехкратной повторности. Описывают реакцию согласно следующей градации (по Церлинг, 1965).

Следует отметить, что основой для определения содержания нитратов должны быть собственные исследования, а не вышеприведенная таблица, т.к. окраска может варьировать в зависимости от качества реактивов, срока их годности, температуры в помещении и др. Изменения окраски растворов заносят в таблицу и строят калибровочную шкалу на нитраты (табл. 3.33).

Овощи следует вымыть и обсушить. Овощи и плоды расчленяют на части: зона, примыкающая к плодоножке, кожура, периферийная часть, срединная часть, кочерыжка (у капусты), жилки, лист без жилок. Вырезанные части мелко режут ножом и быстро растирают в ступке, сок отжимают через 2–3 слоя марли. 2 капли сока капают на чистое предметное стекло, положенное на белую бумагу, добавляют 2 капли дифениламина. Быстро описывают все наблюдаемые реакции согласно схеме. Повторность опыта 3-кратная. В случае сомнений в содержании нитратов в той или иной части овощной продукции капают рядом калибровоч-

ный растворе известной концентрацией вещества и повторяют реакцию с дифениламином.

Таблица 3.32

*Шкала для определения нитратов в срезах и соке растений
(по Церлинг, 1965)*

Баллы	Характер окраски	Содержание нитратов, мг/кг
6	Сок или срез окрашиваются быстро и интенсивно в иссиня-черный цвет. Окраска устойчива и не пропадает	>3000
5	Сок или срез окрашиваются в темно-синий цвет. Окраска сохраняется некоторое время	1500
4	Сок или срез окрашивается в синий цвет. Окраска наступает не сразу	1000
3	Окраска светло-синяя, исчезает через 2–3 минуты	500
2	Окраска быстро исчезает, окрашиваются главным образом проводящие пучки	250
1	Следы голубой, быстро исчезающей окраски	100
0	Нет ни голубой, ни синей окраски. На целых растениях возможно порозовение	0

Таблица 3.33

Калибровочная шкала окраски на нитраты

Концентрация NaNO_3 , мг/кг	Характер окраски	Балл
3000		8
1500		7
750		6
375		5
188		4
94		3
47		2
23		1

Интенсивное синее окрашивание сока указывает на наличие большого количества нитратов. При этом в случае малых концентраций нитратов в овощах и при отсутствии синей окраски может наступить порозовение ткани, вследствие ее обугливания от серной кислоты в реактиве дифениламина.

Анализ начинают с сока капусты и картофеля, затем помещают эти овощи в термостойкий химический стакан с кипящей дистиллированной водой и кипятят 10–15 мин, после чего анализируют и отварные овощи,

и отвар. За время варки делают анализ различных частей других овощей и плодов (не менее четырех видов за занятие).

Количество нитратов в овощах оценивают согласно калибровочной шкале окраски, данные заносят в табл. 3.34.

Делают выводы о возможности употребления исследуемых растений в пищу, о влиянии тепловой обработки на содержание нитратов.

Таблица 3.34

Содержание нитратов в различных частях овощей

Исследуемое растение	Часть	Балл	Содержание нитратов, мг/кг
Картофель свежий	а) под кожурой б) срединная часть		
Картофель отварной	те же части		
Капуста	а) жилки б) кочерыжка в) лист		
Капуста отварная	те же части		
Отвар			

Лабораторная работа № 80. Качественное распознавание минеральных удобрений как возможных загрязнителей сельхозпродукции

Неправильное и избыточное внесение минеральных удобрений, способы их хранения являются причиной загрязнения почв и сельхозпродукции. Водорастворимые формы азотных удобрений попадают в пруды, реки, ручьи, достигают грунтовых вод, вызывая повышенное содержание в них нитратов, что неблагоприятно сказывается на здоровье человека.

Очень часто удобрения вносят в почву неочищенными, что является причиной загрязнения почв радиоактивными (например, изотопами калия при использовании калийных удобрений), а также токсическими веществами. Различные формы суперфосфатов, обладая кислой реакцией, способствуют подкислению почвы, что нежелательно для районов, где рН почвы понижена. Избыточное количество фосфорных удобрений, стекая в стоячие и медленно текущие водоемы, вызывает развитие большого количества водорослей и другой растительности, что ухудшает кислородный режим водоемов и способствует их зарастанию.

В ряде случаев удобрения перевозятся без надлежащей упаковки, хранятся без укрытий на окраинах полей, где они слеживаются, загрязняются и становятся по внешнему виду весьма схожими между собой. В связи с этим современный эколог должен уметь распознавать удобрения по внешнему виду и простым качественным реакциям.

Наиболее распространенные удобрения:

1. Азотные удобрения. Чаще всего применяется аммиачная селитра (NH_4NO_3) и мочевины (NH_2CONH_2). Употребляется также сульфат аммония (NH_4SO_4). В защищенном грунте применяется нитрат кальция ($\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$) и нитрат калия (KNO_3).

2. Фосфорные удобрения. Наиболее распространен простой гранулированный суперфосфат ($\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$) и двойной гранулированный суперфосфат ($\text{Ca}_2(\text{H}_2\text{PO}_4)_3$). Употребляется также фосфоритная мука – $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

3. Калийные удобрения. Применяется, в основном, хлористый калий (KCl), азотнокислый калий (KNO_3) или сульфат калия (K_2SO_4). Меньше употребляются двойные удобрения: сильвинит ($\text{KCl} \cdot \text{NaCl}$) и калимаг ($\text{K}_2\text{SO}_4 \cdot 2\text{MgSO}_4$).

4. Известковые удобрения. К ним относятся известковые материалы, содержащие не менее 50 % CaCO_3 . Это – известковая мука из туфа, доломитовая мука, мел, известь озерная и др. Действие их заключается в нейтрализации почвенной кислотности, улучшении условий для жизнедеятельности микроорганизмов и физических свойств почвы.

Оборудование и материалы

1. Пробирки (12 шт.).
2. Штативы для пробирок.
3. Небольшие ступки с пестиками.
4. Пипетки.
5. Щипцы муфельные.
6. Пинцеты длинные.
7. Электроплитка.
8. Газовая горелка или спиртовка.
9. Кусочки древесного угля.
10. Индикаторная бумага.
11. Дистиллированная вода.
12. 8-10%-я щелочь NaOH или KOH .
13. 5%-й раствор BaCl_2 .
14. Концентрированная HCl .
15. 2%-я HCl .
16. Уксусная кислота (ледяная, разбавленная в 10 раз).
17. 1-2%-й раствор AgNO_3 .

18. Раствор йода в йодистом калии (20 г KI растворяют в 20 мл дистиллированной воды, добавляют 6,35 г кристаллического йода; раствор переносят в мерную колбу на 50 мл, доводят до метки).

19. Четыре вида (или более) наиболее распространенных удобрений (без подписей).

Ход анализа

1. Внешние признаки.

Консистенция. Удобрение может быть кристаллическим (мелко- и крупно-), аморфным, а также в виде гранул. К кристаллическим удобрениям относятся все азотные (за исключением цианамид кальция) и все калийные, к аморфным – все фосфорные и известковые. Фосфорные удобрения часто гранулируются (суперфосфаты).

Цвет удобрения устанавливается путем тщательного осмотра. Признак может несколько изменяться при транспортировке, при загрязнении пылью, а также в зависимости от технологии производства. Очищенные удобрения имеют характерный цвет. Например, калийная соль представляет собой розово-красные кристаллы.

Запах. Почти все удобрения имеют запах, но часто не стойкий, лишь цианамид кальция пахнет керосином.

2. Растворимость в воде.

Помещают в пробирку 1–2 г удобрения, добавляют 15–20 мл дистиллированной воды и хорошо взбалтывают. Наблюдают следующие градации: а) полностью растворимо, б) заметно растворимо (растворяется не менее половины взятого удобрения), в) слабо растворимо (растворяется менее половины взятого удобрения), г) нерастворимо. Если при взбалтывании образовалась обильная муть, заполнившая пробирку, то удобрение слабо растворимо.

К полностью растворимым и заметно растворимым относятся все азотные удобрения, а также калийные. К нерастворимым или слабо растворимым – все фосфорные и известковые.

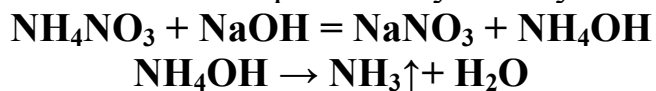
Если удобрение растворилось полностью, то раствор разливают в пробирки и выявляют в нем наличие того или иного катиона или аниона, определяют ряд дополнительных показателей, а затем отыскивают название удобрения по схеме.

3. Реакция водной вытяжки.

В пробирку с водной вытяжкой из удобрений помещают полоску индикаторной бумаги. Суперфосфат имеет характерный запах, сероватый цвет, кислую реакцию за счет гипса. Другие удобрения имеют щелочную реакцию (цианамид кальция, томасшлак, известковые удобрения), у третьих – реакция нейтральная.

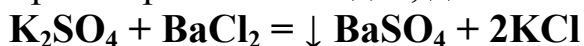
4. Реакция со щелочью.

В раствор удобрения прилить несколько капель 8–10%-го раствора щелочи (KOH или NaOH). В присутствии аммиака при взбалтывании ощущается его выделение по специфическому запаху.



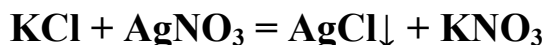
5. Реакция с хлористым барием

В пробирку с раствором удобрения прибавить несколько капель 5%-го раствора хлористого бария. При наличии в удобрении иона SO_4^{2-} выпадает творожистый белый осадок BaSO_4 , нерастворимый в уксусной кислоте. Убедиться в нерастворимости осадка, добавив кислоту.

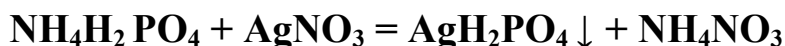


6. Реакция с азотнокислым серебром.

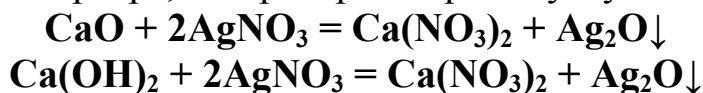
К водному раствору удобрения прибавляют 2–3 капли 1–2%-го раствора AgNO_3 и содержимое пробирки встряхивают. Реакция служит для обнаружения хлора (белый дымчатый осадок AgCl , нерастворимый в уксусной кислоте).



Фосфорные удобрения образуют с AgNO_3 желтоватый осадок, растворимый в уксусной кислоте.



Реакция с AgNO_3 также используется для анализа известковых удобрений. Так, с негашеной и гашеной известью азотнокислое серебро дает бурый осадок закиси серебра, который растворим в уксусной кислоте.



7. Проба на раскаленном угле.

Угольки размером с орех нагревают на электроплитке, берут щипцами или пинцетом, раскаляют в пламени спиртовки докрасна. На уголек насыпают щепотку удобрения, предварительно растертого в ступке и помещенного в узенькую ложечку из фольги. Наблюдают за быстротой сгорания, появлением дыма, цветом пламени, запахом. Аммиачные удобрения распознают по запаху аммиака, нитратные соединения дают вспышку, калийные потрескивают. Если удобрение вспыхивает – это селитра. По цвету пламени различают следующие селитры: натриевая – сгорает желто-оранжевым пламенем, калийная – фиолетовым, аммиачная дает бесцветное пламя, а иногда плавится, кипит с выделением аммиака.

Азотные удобрения, содержащие амидную (NH_2) и аммонийную (NH_4) группы, на раскаленном угле сгорают с выделением белого дыма и запаха аммиака. Кристаллики калийных удобрений на раскаленном угле не вспыхивают, а только слегка потрескивают и «подпрыгивают». Следует заметить, что если уголек плохо раскален (не докрасна), а кристаллики крупные, они могут лежать на угле без всяких изменений.

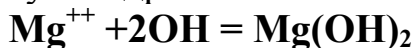
Фосфорные, известковые удобрения, гипс не изменяются на раскаленном угле.

8. Реакция с кислотой.

В пробирку или фарфоровую чашку помещают немного сухого удобрения и капают на удобрение 2–10%-й раствор соляной или уксусной кислоты. Если удобрение вскипает от выделяющегося углекислого газа, то оно представляет собой карбонат или содержит значительную примесь карбоната. К таким удобрениям относятся известковые материалы, зола и др.



9. Определение магния в удобрениях. Проводят с помощью раствора йода в йодистом калии. Ионы магния с гидроксильным ионом воды образуют малорастворимую гидроокись магния.



10. Определение калийных удобрений, содержащих магний.

Помещают в фарфоровую чашку 1–2 капли йода и 1–2 капли щелочи (появляется бледно-желтая окраска), приливают 1–2 капли раствора удобрения. Если в удобрении содержится магний, то окраска становится красно-бурой.

11. Определение известковых удобрений, содержащих магний.

В пробирку с 2–3 г удобрения приливают 2–3 мл уксусной кислоты, взбалтывают и дают отстояться. Затем анализ проводят так же, как описано выше. Содержащие магний известняки окрашивают раствор в красно-бурый цвет, а не содержащие магния дают желтую окраску раствора.

Таким образом, сначала определяют внешние признаки: цвет, запах, консистенцию. Затем выясняют растворимость удобрения и проводят соответствующие качественные реакции. Результаты вносят в табл. 3.35.

Таблица 3.35

Результаты проведения качественных реакций

№	Название	Внешний вид	Растворимость в воде	Реакция водной вытяжки	Реакция со щелочью	Реакция с BaCl_2	Реакция с AgNO_3	Проба на угле	Реакция с кислотой	Прочие реакции
1										
2										
3										
4										

Определяют название удобрения, пользуясь нижеприведенной схемой определения.

Схема определения удобрений по качественным реакциям

1. Удобрение растворимо в воде _____ 2
Удобрение в воде растворимо незначительно или почти нерастворимо _____ 7

2. На угле вспыхивает _____ 3
На угле не вспыхивает _____ 4

3. Не дает запаха аммиака ни на угле, ни со щелочью. Сгорает желто-оранжевым пламенем; бесцветные, прозрачные кристаллы с сероватым или желтоватым оттенком: натриевая селитра – NaNO_3 . Сгорает фиолетовым пламенем, белые кристаллы с желтовато-сероватым оттенком: калиевая селитра – KNO_3 . Дает запах аммиака не только на угле, но и со щелочью, с BaCl_2 осадка не дает, но может дать муть. Белые или желтоватые гранулы размером 1–3 мм или плоские чешуйки: аммиачная селитра – NH_4NO_3 .

4. На угле дает запах аммиака, а со щелочью не дает. Белые гранулы размером от 1 до 5 мм или мелкокристаллический порошок: мочевины – NH_2CONH_2 .

Дает запах аммиака и на угле, и со щелочью. На угле плавится с выделением белого дыма _____ 5

Ни на угле, ни со щелочью не дает запаха аммиака. Крупинки (кристаллики) не сгорают, а только потрескивают или «подпрыгивают» _____ 6

5. С AgNO_3 дает обильный створоживающийся осадок, белый, нерастворимый в уксусной кислоте; с BaCl_2 дает слабую муть. Мелкокристаллический продукт или гранулы белого или желтоватого цвета: хлористый аммоний – NH_4Cl .

С AgNO_3 дает слабую муть, а с BaCl_2 – обильный белый осадок, нерастворимый в кислотах. Кристаллическое вещество белого, серого или иного цвета: сульфат аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; кристаллическая соль желтого цвета: сульфат аммония-натрия $((\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + \text{Na}_2\text{SO}_4)$.

С AgNO_3 дает муть желтой окраски, растворимую в уксусной кислоте. Гранулированный продукт или порошок светло-серого, серого цвета, с добавкой меди – голубой, реакция кислая: аммофос, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$; гранулы темно-серого или светло-серого цвета, реакция нейтральная: диаммофос $(\text{NH}_4)_2\text{P}_2\text{O}_7$.

6. С BaCl_2 образует белый осадок, не растворимый в уксусной кислоте, с AgNO_3 – слабую муть и осадка не дает. Мелкокристаллический порошок белого цвета, иногда с желтоватым оттенком, с йодом дает светло-желтую окраску: сульфат калия – K_2SO_4 .

Дает обильный осадок как с BaCl_2 так и с AgNO_3 . Крупные кристаллы розовато-бурого цвета или кристаллический порошок серого цвета: каинит – $\text{KCl} \cdot \text{MgSO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; светло-серые мелкие кристаллы, се-

рые гранулы неправильной формы или сильно пылящий порошок с сероватым и розовым оттенком, с йодом дает красно-бурую окраску: калимагнезия (шенит) $K_2SO_4 \cdot MgSO_4 \cdot 6H_2O$ или калийно-магниевый концентрат (калимаг) – $K_2SO_4 \cdot 2MgSO_4$.

С $AgNO_3$ дает обильный створоживающийся осадок, нерастворимый в уксусной кислоте, с $BaCl_2$ дает сильную муть. Мелкокристаллическое вещество белого цвета с сероватым оттенком и примесью розовых кристаллов: калий хлористый марки «К» – KCl ; крупнозернистые естественные кристаллы от молочно-белого до красно-бурого цвет – KCl марки «Ф»:

а) естественные кристаллы от красного до бурого цвета – KCl , крупнозернистый из калийных руд;

б) мелкокристаллический порошок коричневого цвета – KCl из нефелинового сырья;

в) мелкокристаллический продукт – естественные кристаллы от молочного до красно-бурого или опрессованные гранулы неправильной формы от белого до красно-бурого цвета, KCl из сильвинита;

г) мелкие розовые кристаллы смешаны с крупными синими или серый кристаллический порошок с включением розовых кристаллов: калийная соль – $KCl + KCl \cdot NaCl$.

7. С уксусной кислотой дает сильное вскипание _____

С уксусной кислотой не дает вскипания или вскипает едва заметно _____

8. Порошок белого, серого или бурого цвета – известковое удобрение:

а) светло-желтая окраска с йодом уксуснокислого раствора удобрения: мел, известняковая мука – $CaCO_3$;

б) окраска с йодом – красно-бурая: доломитовая мука $CaCO_3 \cdot MgCO_3$.

Тонкий пылеватый порошок черно-синего цвета. Часто имеет запах керосина. Красная лакмусовая бумажка, опущенная в водный раствор удобрения, синее: цианамид кальция $CaCN_2$.

Темно-серый тяжелый порошок. Водный раствор имеет щелочную среду. При взаимодействии с кислотой выделяется сероводород: томасшлак $4CaO \cdot P_2O_5$.

9. Водный раствор удобрения дает пожелтение или осадок с $AgNO_3$ _____ 10

Нет пожелтения раствора или осадка с $AgNO_3$ _____ 11

10. Порошок или гранулы от светло- до темно-серого цвета. Синяя лакмусовая бумажка краснеет при соприкосновении с водным раствором удобрения: суперфосфат простой или двойной $Ca(H_2PO_4)_2 + 2CaSO_4, Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$.

Гранулы или порошок светло- или темно-серого цвета, реакция водного раствора нейтральная или слабокислая, при добавлении 2-3 капель реактива Несслера появляется интенсивное бурое окрашивание: аммонизированный суперфосфат. Гранулы голубого или светло-голубого цвета: суперфосфат борный. Порошок тонкий, пылящий, сероватого цвета, реакция водного раствора нейтральная: преципитат – CaHPO_4 .

Порошок тонкий, пылящий, сероватого цвета, реакция нейтральная, с AgNO_3 четкое пожелтение осадка удобрения: обесфторенный фосфат.

11. Темный, тяжелый порошок, реакция среды нейтральная: фосфатшлак. Тонкий, сильно пылящий порошок темно-серого цвета с бурым оттенком: фосфоритная мука – $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$.

Характерные реакции для некоторых удобрений

Для натриевой и калийной селитры единственной реакцией, различающей их между собой и от всех других удобрений, будет вспышка и цвет пламени на раскаленном угле.

Сульфат аммония отличается от похожего на него нитрата аммония реакцией с хлористым барием. От сульфата калия сульфат аммония легко отличить по реакции со щелочью.

Отличительные реакции для некоторых азотных удобрений:

- для $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – реакция с BaCl_2 ,
- для NH_4Cl – реакция с AgNO_3 – белый хлопьевидный осадок.

Реакция на раскаленном угле:

- у NaNO_3 – вспышка желтого цвета;
- у KNO_3 – фиолетового цвета;
- у NH_4NO_3 – белого цвета.

Отличие аммиачной селитры от мочевины: первая на раскаленном угле дымит и вспыхивает, а вторая плавится и не вспыхивает. Мочевина между пальцами мылится, ее кристаллы помельче.

На аммоний применяется реактив Несслера, а на нитраты – дифениламин (на ион NO_3^-). Раствором удобрения смачивают стенки белой фарфоровой чашки. Остатки раствора из чашки выливают, а на смоченную поверхность капают 1–2 капли дифениламина. Синее окрашивание указывает на присутствие иона NO_3^- .

Рекомендуемая литература

Автомобильные дороги в экологических системах. Проблемы взаимодействия / Д.Н. Кавтарадзе, Л.Ф. Николаева, Е.Б.Поршнева, Н.Б.Флорова. – М. : ЧеРо, 1999. – 250 с.

Алексеев А.С. Мониторинг лесных экосистем / А.С. Алексеев. – СПб. : ЛТА, 1997. – 116 с.

Алексеев В.А. Диагностика жизненного состояния деревьев и древостоев / В.А. Алексеев // Лесоведение. – 1989. – № 4. – С. 51–57.

Арчаков А.И. Микросомное окисление / А.И. Арчаков. – М. : Наука, 1975. – 231 с.

Багоцкий С.В. Пестициды и их воздействие на водные экосистемы: обзорная информация / С.В. Багоцкий. – М. : ВНИИТЭИ Агропром, 1992. – 145 с.

Барская Е.И. Изменения хлоропластов и вызревание побегов в связи с морозоустойчивостью древесных растений / Е.И. Барская. – М. : Наука, 1967. – 224 с.

Биоиндикация загрязнений наземных экосистем / Э. Вайнерт. [и др]. – М. : Мир. – 1988. – 348 с.

Бочков Н.П. Наследственность человека и мутагены внешней среды / Н.П. Бочков. – М. : Высшая школа, 1989. – 451 с.

Веретенников А.В. Практикум по физиологии древесных растений : учеб. пособие / А.В. Веретенников. – Воронеж : Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 1993. – 156 с.

Вигоров Л.И. Практикум по физиологии древесных растений / Л.И. Вигоров. – М. : Высшая школа, 1961. – 148 с.

Генкель П.А. Диагностика морозоустойчивости по глубине покоя их тканей и клеток : метод. указания / П.А. Генкель, Е.З. Окнина. – М. : Изд-во АН СССР, 1954. – 36 с.

Генкель П.А. Солеустойчивость растений и пути её повышения / П.А. Генкель. – М. : Изд-во АН СССР, 1954. – 84 с.

Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений / П.А. Генкель. – М. : Наука, 1982. – 280 с.

Генкель П.А. Физиология растений / П.А. Генкель. – М. : Просвещение, 1975. – 335 с.

Головко А.И. Экоотоксикология / А.И. Головко, С.А. Куценко, Ю.Ю. Ивницкий и др. – СПб. : Изд-во НИИХ СПб ГУ, 1999. – 124 с.

Горышина Т.К. Растение в городе / Т.К. Горышина. – Л. : Изд-во ЛГУ, 1991. – 152 с.

Ильин В.Б. Тяжелые металлы в системе почва-растение / В.Б. Ильин. – Новосибирск : Наука. Сиб. отд-ние, 1991. – 148 с.

Исидоров В.А. Введение в химическую экотоксикологию / В.А. Исидоров. – СПб. : Химиздат, 1999 – 144 с.

Колесников С.И. Сравнительная оценка действия различных химических элементов на экологическое состояние почвы /С.И. Колесников [и др] // Материалы Международной научной конференции : экология и биология почв : проблемы диагностики и индикации. – Ростов н/Д, 2006. – С. 264–268.

Коробков В.Б. Балльные классификации в геоэкологии : преимущества и недостатки / В.Б. Коробков, Б.И. Кочуров // Проблемы региональной экологии. – 2007. – № 1. – С. 66–70.

Котелевцев С.В. Эколого-токсикологический анализ на основе биологических мембран / С.В. Котелевцев, С.Л. Стволинский, А.М. Бейм. – М. : МГУ. – 1986. – 184 с.

Крамер П. Физиология древесных растений / П. Крамер, Т. Козловский ; пер. с англ. И.Г. Завадской [и др.]. – М. : Лесн. пр-ть, 1983. – 462 с.

Кулинский В.И. Обезвреживание ксенобиотиков / В.И. Кулинский // Соросовский образовательный журнал. – 1999. – № 1. – С. 8–12.

Майстренко В.Н. Экологоаналитический мониторинг супертоксикантов / В.Н. Майстренко, Р.З. Хамитов, Г.К. Будников. – М. : Химия, 1996. – 319 с.

Мелехова О.П. Биологический контроль окружающей среды : биоиндикация и биотестирование / О.П. Мелехова, Е.И. Егорова. – М. : Академия, 2007. – 288 с.

Мельников Н.Н. Хлоруглеводороды и некоторые их производные в окружающей среде / Н.Н. Мельников // Агрохимия. – 1992. – № 6. – С. 112–119.

Методика организации и проведения работ по мониторингу лесов европейской части России по программе ICP –Forests (методика ЕЭК ООН) : инструкция. – М. : Федеральная служба лесного хозяйства России, 1995. – 42 с.

Методические указания и рекомендации по установлению токсичности сточных и природных вод (РД 118-02-90 утвержден Госкомприроды СССР от 06 августа 1990 г. № 37 «Методическое руководство по биотестированию воды»; Утверждено Минприродой России от 27 апреля 2001 г. «Руководство по определению методов биотестирования токсичности вод, донных отложений, загрязняющих веществ и буровых растворов». – М. : РЭФИА, НИА-Природа, 2002.

Методы первичного выявления генетической активности загрязнителей среды с помощью бактериальных тест-систем / под ред. П.А. Мельниковой. – М. : Изд-во МГУ, 1985. – 4 с.

Мутагены и канцерогены окружающей среды и наследственность человека. Материалы Международного симпозиума. – М., – 1994. – 345 с.

Николаевский В.С. Биологические основы газоустойчивости растений / В.С. Николаевский. – Новосибирск : Наука, 1979. – 280 с.

Об утверждении Методических указаний по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения : приказ Федерального агентства по рыболовству от 4 августа 2009 г. № 695.

О государственной регистрации потенциально опасных химических и биологических веществ : постановление Правительства Российской Федерации от 12 ноября 1992 г. № 869 // Собр. актов Президента и Правительства Российской Федерации. – 1992. – № 20. – Ст. 1669.

Основы микротехнических исследований в ботанике. Справочное руководство / Р.П. Барыкина [и др]. – М. : Изд. каф. высших растений МГУ. 2000. – 127 с.

Полещук О.М. Рейтинговые оценки состояния городских насаждений на основе методов теории нечетных множеств / О.М. Полещук, В.А. Фролова // Лесное хозяйство. – М., 2003. – № 2. – С. 45–48.

Попова Т.Н. Методические указания по спецкурсу «Биохимическая экология» / Т.Н. Попова. – Воронеж : Типография ВГУ, 1996. – 32 с.

Прохорова Н.В. Аккумуляция тяжелых металлов дикорастущими и культурными растениями в лесостепном и степном Поволжье / Н.В. Прохорова, Н.М. Матвеев, В.А. Павловский. – Самара : Изд-во Самарск. гос. ун-та, 1998. – 131 с.

Руководство по краткосрочным тестам для выявления мутагенных и канцерогенных химических веществ. – Л. : Медицина, 1989. – 212 с.

Сергеев И.В. Гистохимические методы изучения распределения кадмия и свинца в растениях / И.В. Сергеев, В.Б. Иванов // Физиология растений. – 1997. – Т. 44, № 6. – С. 912–921.

Сергеев Л.И. Морфо-физиологическая периодичность и зимостойкость древесных растений / Л.И. Сергеев, К.А. Сергеева, В.К. Мельников. – Уфа : Изд-во Академии Наук СССР, 1961. – 224 с.

Слейчер Р. Водный режим растений / Р. Слейчер ; пер. с англ. В.Д. Утехина. – М. : Мир, 1970. – 368 с.

Смирнова Т.В. Основы токсикологии : учеб. пособие /Т.В. Смирнова, А.В. Тарасов. – СПб. : ПГУПС, 1998. – 34 с.

Статистическая обработка данных тестирования на мутагенность. методические указания / под ред. В.Д. Лечкявичус. – Вильнюс, 1989. – 29 с.

Уфимцева М.Д. Фитоиндикация экологического состояния урбогеосистем / М.Д. Уфимцева, Н.В. Терехина. – СПб. : Наука, 2005. – 339 с.

Фёдорова А.И. Практикум по экологии и охране окружающей среды / А.И. Фёдорова, А.Н. Никольская. – М. : ВЛАДОС, 2003. – 287 с.

Федорова Е.В. Основы токсикологии / Е.В. Федорова. – М. : МЭИ, 2004. – 78 с.

Фонштейн Л.М. Тест-система оценки мутагенной активности загрязнителей сферы на *Salmonella* / Л.М.Фонштейн, Л.М. Калинина, Г.Н. Полухина и др. – М. : МГУ. – 1977. – 107 с.

Хазиев Ф.М. Ферментативная активность почв : метод. пособие / Ф.М. Хазиев. – М. : Наука. – 1976. – 150 с.

Церлинг В.В. Изучение роли питания в формировании урожая как основы растительной диагностики / В.В. Церлинг // Почвоведение. – 1965. – № 8. – С. 63–75.

Чекалин С.В. Водный баланс и состояние растений / С.В. Чекалин. – Алма-Ата : Наука, 1987. – 168 с.

Юрин В.М. Основы ксенобиологии. / В.М. Юрин. – Мн. : Новое издание, 2002. – 272 с.

Ames, B.N., J. McCann & E. Yamasaki, 1975. Method for detecting carcinogens and mutagens with the *Salmonella*/mammalian microsomes mutagenicity test. *Mutat. Res.* 31: 347-364.

Ames, B.N., 1971. The detection of chemical mutagens with enteric bacteria. In *Chemical Mutagens: Principles and Methods for their detection*, v.1, A. Hollaender (Ed). N.Y. Plenum Press, pp 267-282.

Manual on methods and criteria for harmonized sampling, assessment, monitoring and analysis of the effects of air pollution on forests. - Hamburg – Prague: Programme Coordinating Centers / UNECE. – 1998. – 177 p.

4. СТАТИСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО РИСКА ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ

В настоящем разделе изложены методики и примеры оценки риска для здоровья населения, связанного с химическим загрязнением окружающей среды. Рассмотрен пример составления типового проекта по оценке риска для здоровья населения, обусловленного воздействием выбросов загрязняющих веществ в атмосферный воздух от блочно-модульной котельной, расположенной в жилом квартале города, с целью обоснования возможности сокращения санитарно-защитной зоны.

Теоретические подходы к изучению данной проблемы базируются на трудах ведущих отечественных и зарубежных ученых в области гигиены и экологии человека [Основы оценки риска..., 2002], что позволило обосновать современный рискологический подход в проблеме «среда – здоровье», ориентированный на выявление факторов экологического риска и минимизацию их негативного эффекта воздействия на биоту и население. Учебно-научные аспекты проблемы изложены в предшествующих учебных пособиях и научных монографиях с участием авторов данного раздела, с которыми полезно ознакомиться студентам перед выполнением приведенных лабораторных работ [Куролап С.А. и др., 2015; Куролап С.А. и др., 2016].

4.1. Когортный метод оценки риска

Данный метод – один из часто применяемых методов оценки относительного риска, достаточно информативный, но не требующий значительных затрат на организацию исследования.

Цель когортных исследований – определение факторов и вероятных причин возникновения и распространения экологически обусловленных заболеваний человека. Название исследования произошло от слова «когорта» (группа людей), имеющего следующие трактовки:

- во времена античности – войсковое подразделение, часть легиона, которое в Древнем Риме включало несколько сотен человек;
- в современном понимании, в медицинской экологии – группа (выборка) людей, объединенных общими признаками состояния здоровья, в которой ожидается возникновение случаев болезни.

Суть когортного исследования заключается в выявлении достоверных отличий анализируемых признаков, характерных для групп лиц, подвергающихся и не подвергающихся воздействию выбранного экологического фактора. В этом случае участников исследования разбивают на группы в зависимости от воздействия факторов риска для наблюде-

ния отличий их состояния здоровья. Группа лиц, подверженная воздействию фактора, называется «основная», а не подверженная – «контрольная». В последующем сравнивается заболеваемость в группе, подвергавшейся воздействию, с показателем заболеваемости в группе, не подвергавшейся воздействию.

Группы лиц должны быть максимально схожи по объему, социально-профессиональным и поло-возрастным параметрам (например, дети детских дошкольных учреждений или школ в условно-чистых и промышленно загрязненных зонах городов, работники токсичных и «экологически чистых» производств, население промышленных городов и курортных районов и т.д.), но различны (контрастны) по подверженности исследуемому фактору. Обычно численность основной и контрольной групп должна быть близка (в идеале – идентична) и включать несколько десятков или сотен человек (оптимально: около 80 – 200 человек). При подборе групп не стоит выбирать нетипичных лиц, например с малым производственным стажем, зрелым возрастом и т.д., т.к. такие группы населения неинформативны.

Методика применения метода состоит в исследовании достоверности различий критериев состояния здоровья основной и контрольной групп, а также в расчете относительного риска. При этом сначала контингенты испытуемых лиц разделяют на 4 группы: А (++) – лица в контакте с фактором риска, больные; В (+-) – лица в контакте с фактором риска, здоровые; С (-+) – лица вне контакта с фактором риска, больные; D (--) – лица вне контакта с фактором риска, здоровые; а далее применяют статистический метод оценки достоверности различий по критерию хи-квадрат (X^2), используя алгоритм.

А) составляется четырехпольная таблица, куда заносятся данные о работниках предприятия:

Таблица 4.1

Схема записи результатов

Количество лиц	Больные	Здоровые	Всего
В контакте с вредным фактором	А	В	А+В
Вне контакта с вредным фактором	С	Д	С+Д
Всего	А+С	В+Д	А+В+С+Д

Б) определяется критерий X^2 (хи-квадрат) по формуле (4.1):

$$X^2 = \frac{(A \cdot D - B \cdot C)^2 \cdot (A + B + C + D)}{(A + B) \cdot (C + D) \cdot (A + C) \cdot (B + D)} \quad (4.1)$$

При достоверном различии ($P < 0,05$) критерий χ^2 должен быть больше **3,84**; а при $P < 0,01$ – больше **6,63**.

В) при установленном достоверном различии определяется величина относительного риска (**ОР**) по формуле (4.2):

$$OP = \frac{(A \cdot D)}{(B \cdot C)} \quad (4.2)$$

Лабораторная работа № 81. Оценка относительного экологического риска для здоровья населения когортным методом

Ситуационная информация: с целью выяснения зависимости здоровья детей промышленно развитого города от качества воздуха изучена за трехлетний период заболеваемость 150 детей из школы № 5, расположенной вблизи шинного завода (основная группа). В качестве контрольной группы выбраны 150 детей лицея № 8 в Северном жилом районе, расположенном вдали от промышленной зоны (условно–чистая зона).

Цель (задание): оценить: 1) достоверность различий состояния здоровья детей основной и контрольной групп; 2) относительный риск для здоровья детей, проживающих вблизи завода с вредными выбросами в атмосферу загрязняющих веществ.

Таблица 4.2

Порядок выполнения задания

Количество лиц	Больные	Здоровые	Всего
В загрязненном районе (вблизи завода)	98	52	150
В условно-чистой зоне	41	109	150
Всего	139	161	300

Решение: определяется критерий χ^2 (*хи-квадрат*) по формуле (4.1):

$$\chi^2 = \frac{(98 \cdot 109 - 41 \cdot 52)^2 \cdot 300}{139 \cdot 161 \cdot 150 \cdot 150} = 43,6$$

и величина относительного риска (ОР) по формуле (4.2):

$$OP = 98 \cdot 109 / 41 \cdot 52 = 5.$$

Ответ: 1) различие показателей состояния здоровья детей статистически достоверно с вероятностью более 99 % ($\chi^2 = 43,6$); 2) относительный риск появления заболеваний у детей, проживающих вблизи завода, в **5 раз выше**, чем у детей, проживающих в условно-чистой зоне.

4.2. Методология и примеры оценки риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду

4.2.1. Теоретические основы методологии оценки риска

Для оценки воздействия техногенного загрязнения окружающей среды на здоровье населения урбанизированных регионов целесообразно применение современных методик оценки экологического риска.

Практическая потребность анализа и управления экологическим риском закономерно проявилась в России на рубеже XX – XXI вв. как основа принятия эффективных решений и целевых программ по устойчивому эколого-экономическому развитию крупных градопромышленных агломераций и обеспечению экологической безопасности населения. Концепция риска исходит из того, что наличие в окружающей среде потенциально опасных химических веществ и других вредных экологических факторов создает угрозу здоровью человека. Ключевое звено в данной концепции – здоровье человека и его охрана от вредного воздействия (т.е. снижение уровня риска) на основе анализа, выявления и устранения факторов риска.

Риск для здоровья – вероятность развития угрозы жизни или здоровью человека либо угрозы жизни или здоровью будущих поколений, обусловленная воздействием факторов среды обитания.

Под **факторами риска здоровью** понимаются факторы, провоцирующие или увеличивающие риск развития определенных заболеваний. Применительно к неблагоприятному воздействию окружающей среды выделяют **факторы среды обитания**, к которым относят биологические (вирусные, бактериальные, паразитарные и иные), химические (загрязняющие вещества), физические (шум, вибрация, ультразвук, инфразвук, тепловые, ионизирующие, неионизирующие и иные излучения), социальные (питание, водоснабжение, условия быта, труда, отдыха) и иные факторы среды обитания, оказывающие воздействие на человека.

Оценка риска для здоровья – это процесс установления вероятности развития и степени выраженности неблагоприятных последствий для здоровья человека или здоровья будущих поколений, обусловленных воздействием факторов среды обитания.

В последние годы быстро развивается новое научное направление, базирующееся на теории риска для здоровья, связанного с химическим загрязнением окружающей среды. Оно получило развитие на базе совместных разработок федерального центра гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана,

Федерального центра экологической политики России и Американского агентства по охране окружающей среды (US EPA). Базируясь на этой методологии, возможно идентифицировать и количественно оценивать уровни риска, а также планировать меры по организации мониторинга окружающей среды и снижению риска в экологически неблагополучных районах [Основы оценки риска..., 2002].

Основные положения этой методологии оценки риска здоровью населения закреплены в руководстве Р 2.1.10.1920–04 «Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду» (утверждено главным государственным санитарным врачом РФ Г.Г. Онищенко, 05.03.2004).

В соответствии с данным «Руководством» процедуру оценки риска для здоровья населения, обусловленного воздействием химических загрязнителей среды обитания, можно подразделить на пять взаимосвязанных этапов.

- **Идентификация опасности:** выявление потенциально вредных факторов, оценка связи между изучаемым фактором и нарушениями состояния здоровья человека, достаточности и надежности имеющихся данных об уровнях загрязнения различных объектов окружающей среды исследуемыми веществами; составление перечня приоритетных химических веществ, подлежащих последующей характеристике.

- **Оценка воздействия (экспозиции) химических веществ на человека:** характеристика источников загрязнения, маршрутов движения загрязняющих веществ от источника к человеку, путей и точек воздействия; определение доз и концентраций, воздействовавших в прошлом, воздействующих в настоящем или тех, которые, возможно, будут воздействовать в будущем; установление уровней экспозиции для популяции в целом и ее отдельных субпопуляций, включая сверхчувствительные группы.

- **Оценка зависимости «доза–ответ»:** выявление количественных связей между показателями состояния здоровья и уровнями экспозиции. Для этого, как правило, используются экспериментальные данные (токсикологический эксперимент, спланированное эпидемиологическое гигиеническое исследование и др.).

- **Характеристика риска:** анализ всех полученных данных; расчет рисков для популяции и её отдельных подгрупп; сравнение рисков с допустимыми (приемлемыми) уровнями; сравнительная оценка и ранжирование различных рисков по степени их статистической, медико-биологической и социальной значимости; установление медицинских приоритетов и тех рисков, которые должны быть предотвращены или снижены до приемлемого уровня.

• **Управление риском:** заключительный этап, связанный с мероприятиями по минимизации риска, которые осуществляются на основе выявленных приоритетов.

При этом эффекты воздействия на организм человека с точки зрения ответной реакции экспонированного населения можно с некоторой долей условности разделить на две основные группы:

- **канцерогенные;**
- **неканцерогенные (общетоксические).**

Типичные графические модели «доза – ответ (эффект)» иллюстрирует рис. 4.1.

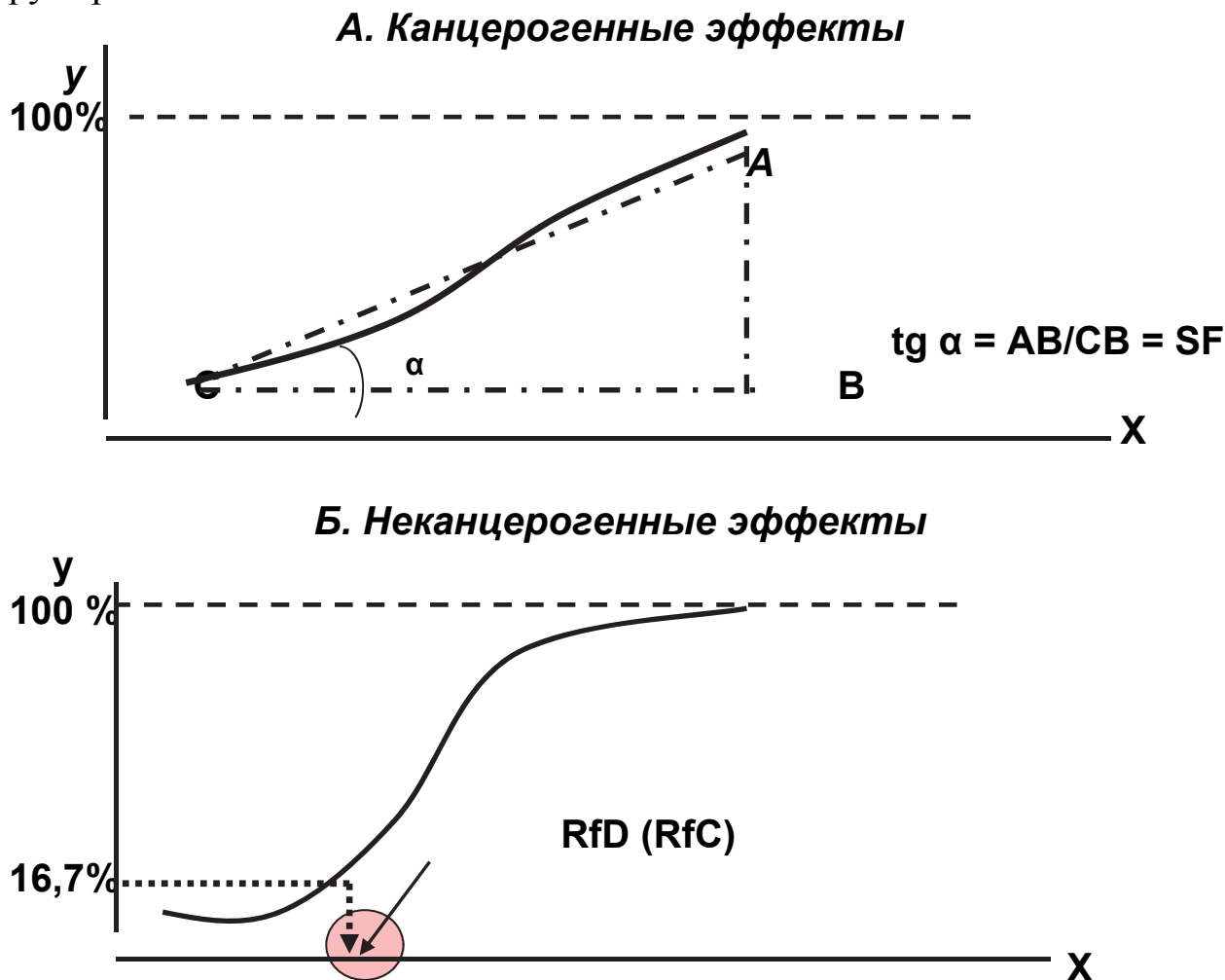


Рис. 4.1. Типичные модели «доза – эффект» (сплошная линия – зависимость возрастания числа токсических эффектов при увеличении воздействующей дозы вредного фактора)

По оси абсцисс (X) – доза (концентрация) воздействующего вредного фактора; по оси ординат (Y) – эффект (ответный отклик, т.е. % заболевших или лиц, у которых проявился токсический эффект от общего числа экспонированных лиц).

Под **канцерогеном** понимают любой химический, физический или биологический агент, способный вызвать развитие рака (злокачествен-

ной опухоли), а под **канцерогенным эффектом** – возникновение злокачественных новообразований при воздействии факторов окружающей среды. Известно, что канцерогенные эффекты приближаются к прямой (линейной) зависимости (рис. 4.1, А): чем выше доза, тем сильнее эффект (тяжелые металлы, бенз(а)пирен и т.д.). Однако, определенный порог в принципе есть всегда (в малых дозах и радиация безвредна), но для канцерогенов он довольно низок. Как правило, канцерогены вызывают также побочные неканцерогенные эффекты.

Неканцерогенный эффект характеризует возрастание вероятности развития заболеваний различной природы, за исключением канцерогенных, и в отличие от канцерогенного эффекта проявляется по типу порогового эффекта, когда после определенного уровня воздействия эффект становится достоверным (проявляется не менее чем у 1/6 части популяции, т.е. у 16,7 % экспонированных лиц), а рост патологических реакций проявляется по экспоненциальному закону. Графическая модель напоминает «хоккейную клюшку» или сигмоидальную кривую (рис. 4.1, Б).

SF – фактор канцерогенного потенциала (мг/(кг*сутки))⁻¹ – мера дополнительного индивидуального канцерогенного риска или степень увеличения вероятности развития рака при воздействии канцерогена. Определяется как тангенс угла наклона зависимости «доза–эффект» в нижней «линейной» части экспериментальной кривой. Факторы наклона канцерогенного потенциала разработаны в экспериментальных исследованиях на животных на основе использования линейной многоступенчатой модели и с учетом статистической экстраполяции с высоких доз, где наблюдаются эффекты в лабораторных условиях, на малые дозы, реально встречающиеся в объектах окружающей среды, при которых эффект в эксперименте не выявляется. Фактор канцерогенного потенциала – табличная (справочная) величина, определяемая экспериментальным путем с последующим применением математических методов экстраполяции воздействия «высоких» доз на воздействие «низких».

RfD – референтная доза – суточное воздействие химического вещества в течение всей жизни, которое не приводит к возникновению неприемлемого риска для здоровья (**RfC** – концентрация). Как и фактор канцерогенного потенциала – это справочные величины.

Бывают, однако, и эффекты особого рода (**эффекты оптимума**), которые проявляются особым образом, например, когда существует оптимальная доза, любые отклонения от которой вредны, т.е. вызывают патологические реакции (примеры: микроэлементозы – болезни, связанные с балансом макро- и микроэлементов; так, недостаток фтора способствует развитию кариеса, а избыток – флюороза и т.д.). Это свойственно практически всем эссенциальным элементам: наличие зоны оптимума, отклонение от которой приводит к возрастанию вероятности развития вредных эффектов. Эффекты оптимума отражают видовую толерантность к воздей-

ствующему вредному фактору и типичны для большинства эссенциальных веществ, присутствующих в организме в микродозах. Однако, в «Руководстве по оценке риска» (2004) такие эффекты не рассматриваются.

Токсические эффекты могут иметь латентный период (например, контакт с фосфорорганическими пестицидами может приводить к ограничению подвижности и параличу нижних конечностей через несколько месяцев после контакта; длительное вдыхание паров асбеста может приводить к развитию рака легких спустя 20 – 25 лет).

Очень часто вредные эффекты характеризуют по локализации: поражение центральной нервной системы (ЦНС), желудочно-кишечного тракта, органов кроветворения, репродуктивной системы и т.д.

Критические органы и системы – те органы (системы), которые наиболее чувствительны к действию наименьших из эффективных доз или концентраций химических веществ; причем при одновременном поражении нескольких органов эффекты носят название «**системные эффекты**». Так, для воздействующих аэрогенным путем диоксида азота критическими будут органы дыхания, фенола – органы дыхания и глаза, толуола – центральная нервная система.

Таким образом, модели зависимости «доза–эффект» отражают основные количественные закономерности между воздействующей дозой и частотой вредных эффектов в экспонированной популяции. Наиболее типичны для химических загрязнителей среды обитания. Уровень реакции организма зависит от дозы. Чем выше доза, тем больший % населения реагирует на химическое воздействие и тем тяжелее реакция. Для канцерогенных эффектов пороговые дозы не признаются, а эффекты имеют линейный характер. Неканцерогенный эффект проявляется только после достижения пороговых (референтных) доз, а достоверным эффект считается в случае, если он проявляется не менее чем у 16,7 % части экспонированной популяции.

При оценке риска потенциальные дозы загрязняющих веществ, как правило, усредняются с учетом массы тела и времени воздействия. Такая доза носит название **средней суточной дозы (ADD)**.

При этом обычно принимается допущение, что в среднем суточное потребление атмосферного воздуха для взрослого человека составляет 20 м³/сутки, а потребление питьевой воды – 2 л.

Боле точно, как приведено в «Руководстве по оценке риска» (2004), расчет среднесуточных доз при ингаляционном воздействии загрязняющих веществ, поступающих с атмосферным воздухом, проводится по формуле (4.3)

$$ADD = \frac{((Ca \cdot Tout \cdot Vout) + (Ch \cdot Tin \cdot Vin)) \cdot EF \cdot ED}{BW \cdot AT \cdot 365} . \quad (4.3)$$

При этом, как правило, принимаются стандартные значения показателей (факторов экспозиции), приведенные в табл. 4.3.

Таблица 4.3

Стандартные значения факторов экспозиции, принимаемых для расчета среднесуточных доз при ингаляционном воздействии загрязняющих веществ

Параметр	Характеристика	Стандартное значение
ADD	Среднесуточная доза (величина поступления), мг/(кг*день)	—
Ca	Концентрация вещества в атмосферном воздухе, мг/м ³	—
Ch	Концентрация вещества в воздухе жилища, мг/м ³	при отсутствии данных: Ch = Ca
Tout	Время, проводимое вне помещений, час/день	8 ч/день
Tin	Время, проводимое внутри помещений, час/день	16 ч/день
Vout	Скорость дыхания вне помещений, м ³ /час	1,4 м ³ /час
Vin	Скорость дыхания внутри помещения, м ³ /час	0,63 м ³ /час
EF	Частота воздействия, дней/год	350 дней/год
ED	Продолжительность воздействия, лет	взрослые: 30 лет; дети: 6 лет
BW	Масса тела, кг	взрослые: 70 кг; дети: 15 кг
AT	Период осреднения экспозиции, лет	взрослые: 30 лет; дети: 6 лет; канцерогены: 70 лет (независимо от возраста)

Пример. Рассчитать среднесуточную дозу поступления в организм диоксида азота при ингаляционном воздействии с атмосферным воздухом для детского и взрослого населения, если его среднесуточная концентрация в атмосферном воздухе составляет 0,05 мг/м³, а в воздухе жилого помещения – 0,04 мг/м³.

С использованием стандартных значений показателей имеем:

– для взрослого населения:

$$ADD = \frac{((0,05 \cdot 8 \cdot 1,4) + (0,04 \cdot 16 \cdot 0,63)) \cdot 350 \cdot 30}{70 \cdot 30 \cdot 365} = 0,013 \frac{\text{мг}}{\text{кг}} \text{ в сутки};$$

– для детского населения:

$$ADD = \frac{((0,05 \cdot 8 \cdot 1,4) + (0,04 \cdot 16 \cdot 0,63)) \cdot 350 \cdot 6}{15 \cdot 6 \cdot 365} = 0,062 \frac{\text{мг}}{\text{кг}} \text{ в сутки}$$

Расчет среднесуточных доз при пероральном поступлении химических веществ с питьевой водой производится в соответствии с формулой (4.4) и данными, приведенными в табл. 4.4.

Таблица 4.4

Стандартные значения факторов экспозиции при пероральном поступлении химических веществ с питьевой водой

Параметр	Характеристика	Стандартное значение
ADD	Поступление с питьевой водой, мг/(кг*день)	—
Cw	Концентрация вещества в воде, мг/л	—
V	Величина водопотребления, л/сут.	взрослые: 2 л/сут.; дети: 1 л/сут.
EF	Частота воздействия, дней/год	350 дней/год
ED	Продолжительность воздействия, лет	взрослые: 30 лет; дети: 6 лет
BW	Масса тела, кг	взрослые: 70 кг; дети: 15 кг
AT	Период осреднения экспозиции, лет	взрослые: 30 лет; дети: 6 лет; канцерогены: 70 лет (независимо от возраста)

$$ADD = \frac{Cw \cdot V \cdot EF \cdot ED}{BW \cdot AT \cdot 365} \quad (4.4)$$

Справочные величины (SF, RfC, RfD, критические органы и системы по веществам, стандартные значения факторов экспозиции), необходимые для расчета рисков, приводятся в приложении к «Руководству по оценке риска» (2004).

Канцерогенный риск (CR) в течение жизни определяется по формуле (4.5)

$$CR = ADD \cdot SF, \quad (4.5)$$

где ADD – средняя суточная доза в течение жизни, мг/кг*день; SF – фактор канцерогенного потенциала, мг/кг*сутки⁻¹.

Неканцерогенный риск количественно оценивается на основе расчета коэффициента опасности (*HQ*) по формулам (4.6) и (4.7):

$$HQ = Ci/RfC \text{ (воздух) ,} \quad (4.6)$$

или

$$HQ = ADD/RfD \text{ (вода, продукты питания) ,} \quad (4.7)$$

где *HQ* – коэффициент опасности; *ADD* – средняя доза, мг/кг; *Ci* – средняя концентрация (для воздушной среды – мг/м³, для водной среды – мг/дм³, для почвы и продуктов питания – мг/кг); *RfD* – референтная (безопасная) доза, мг/кг; *RfC* – референтная (безопасная) концентрация, (для воздушной среды – мг/м³, для водной среды – мг/дм³, для почвы и продуктов питания – мг/кг).

С учетом однонаправленности воздействия веществ рассчитывается индекс опасности (*CI* или *HI*) в зависимости от характера суммируемых рисков, т.е. риск комбинированного эффекта по формулам (4.8) и (4.9):

$$CI = CR1 + CR2 + \dots + CRn , \quad (4.8)$$

$$HI = HQ1 + HQ2 + \dots + HQn , \quad (4.9)$$

где *n* – число веществ; *CR*_{1...n}, *HQ*_{1...n} – коэффициенты опасности для отдельных компонентов смеси воздействующих веществ.

Обычно в практике расчета рисков определяют индивидуальный и популяционный риски для здоровья населения.

- **Индивидуальный риск** – оценка вероятности развития неблагоприятного эффекта у экспонируемого индивидуума, например, риск развития рака у одного индивидуума из 1 000 лиц, подвергавшихся воздействию (риск 1 на 1 000 или 1*10⁻³). Обычно рассчитывается на период «в течение жизни».

- **Популяционный риск** – риск токсических эффектов у экспонированной группы населения (обычно рассчитывается на 1 год).

Оценка неканцерогенного риска проводится суммарно, а также по отдельным критическим органам и системам (табл. 4.5).

Таблица 4.5

Пример расчета рисков по отдельным органам (системам)

Вещество	Доза, мг/кг	RfD, мг/кг	HQ	Орган
А	0,005	0,05	0,1	почки
Б	16,0	4,0	4,0	печень
С	0,12	0,4	0,3	почки
Д	0,08	0,2	0,4	печень
Суммарный риск		HI общий	4,8	–
		HI почки	0,4	–
		HI печень	4,4	–

Как видно из табл. 4.5, наибольший вклад как в суммарную величину НІ, так и в риск воздействия на печень вносит вещество Б. Наименее значимую роль в формировании риска играет вещество А.

4.2.2. Шкала оценки рисков

При оценке индивидуального риска для здоровья ориентируются на систему *критериев приемлемости (безопасности)*. Они различны для показателей канцерогенного и неканцерогенного рисков.

Канцерогенный риск (CR):

1. Первый диапазон риска (индивидуальный риск в течение всей жизни, равный или меньший $1 * 10^{-6}$, что соответствует одному дополнительному случаю серьезного заболевания или смерти на 1 млн экспонированных лиц) характеризует такие уровни риска, которые воспринимаются всеми людьми как пренебрежимо малые, не отличающиеся от обычных, повседневных рисков. Подобные риски не требуют никаких дополнительных мероприятий (***риск допустимый; не вызывающий беспокойства***).

2. Второй диапазон (индивидуальный риск в течение всей жизни более $1 * 10^{-6}$, но менее $1 * 10^{-4}$) соответствует предельно допустимому риску, т.е. верхней границе приемлемого риска. Данные уровни подлежат постоянному контролю (***риск, вызывающий беспокойство***).

3. Третий диапазон (индивидуальный риск в течение всей жизни более $1 * 10^{-4}$, но менее $1 * 10^{-3}$) приемлем для профессиональных групп и неприемлем для населения в целом. Требуется разработки и проведения плановых оздоровительных мероприятий (***опасный риск***).

4. Четвертый диапазон (индивидуальный риск в течение всей жизни, равный или более $1 * 10^{-3}$) неприемлем ни для населения, ни для профессиональных групп. Требуется экстренной профилактики (***чрезвычайно опасный, недопустимый риск***).

Неканцерогенный риск (NQ) количественно оценивается на основе расчета коэффициента опасности:

1. Если величина риска $NQ < 0,8$, то неканцерогенный риск считается ***допустимым*** ($<0,5$ = целевой риск), не вызывающим беспокойства.

2. Если величина риска NQ от 0,8 до 1,0 – риск ***предельно допустимый***, вызывающий беспокойство.

3. Если $NQ > 1$ – ***опасный риск***.

Управление риском – процесс принятия решений, включающий рассмотрение совокупности политических, социальных, экономических

медико-социальных и технических факторов совместно с соответствующей информацией по оценке риска с целью разработки оптимальных решений по устранению или снижению уровней риска, а также способам последующего контроля (мониторинга) экспозиций и рисков. Является логическим продолжением оценки риска и направлено на обоснование наилучших в данной ситуации решений по его устранению или минимизации, а также динамическому контролю (мониторингу) экспозиций и рисков, оценке эффективности и корректировке оздоровительных мероприятий.

С целью снижения уровней риска могут использоваться следующие подходы: снижение числа и мощности воздействия источников опасности; повышение эффективности очистки выбросов загрязняющих веществ; уменьшение числа экспонированных лиц; снижение вероятности аварийных ситуаций.

Основные источники информации и характеристики при оценке риска здоровью, обусловленного воздействием химических загрязнителей атмосферного воздуха, приведены в табл. 4.6.

Таблица 4.6

Основные источники информации и характеристики при оценке риска здоровью, обусловленного воздействием химических загрязнителей атмосферного воздуха

Этапы оценки риска	Основные источники информации	Основные характеристики
1. Идентификация опасности	Проект ПДВ, результаты расчета приземных концентраций (составные элементы проекта ПДВ) либо данные лабораторных исследований	Объем выбросов, перечень загрязняющих веществ, их концентрации в приземном слое воздуха (расчетные или инструментальные данные)
2. Оценка зависимости «доза–ответ»	Справочные данные, нормативные документы (санитарные нормы и правила, гигиенические нормативы, в т.ч. других стран)	Сведения о вредных эффектах, нормативные (безопасные уровни воздействия: ПДК, RfC, RfD), пропорции роста риска на единицу дозы вещества (SFi, SFo)
3. Оценка экспозиции	Установление пути поступления загрязняющего вещества в организм, времени воздействия, численности экспонированного населения	Путь поступления, время воздействия, среднесуточная доза поступления в организм (ADD)

Этапы оценки риска	Основные источники информации	Основные характеристики
4. Характеристика риска для здоровья населения	Результаты 1–3 этапа	Расчет индивидуального канцерогенного риска (CR), коэффициентов и индексов опасности (HQ, HI), характеризующих неканцерогенный риск, сравнение их с приемлемыми (безопасными) уровнями риска

4.3. Примеры расчета рисков вследствие загрязнения атмосферного воздуха и питьевой воды (лабораторные работы)

Оснащение занятий

- Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду (Р 2.1.10.1920 – 04). – М. : Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 143 с. (электронный документ).
- Программный продукт Microsoft Office Excel.

Лабораторная работа № 82. Оценка канцерогенного риска от присутствия бенз(а)пирена в атмосферном воздухе

Цель занятия: освоить алгоритм расчета канцерогенного риска для здоровья населения, обусловленного присутствием токсиканта в атмосферном воздухе.

Постановка задачи

Ситуационная информация: приведены среднесуточные концентрации бенз(а)пирена в атмосферном воздухе и воздухе внутри помещений по районам промышленно-развитого города. Фактор потенциала (SF_1) составляет $3,9 \text{ (мг/(кг*сутки))}^{-1}$.

Порядок выполнения задания

Рассчитать путем программирования формул в MS Excel: 1) среднесуточную дозу загрязнителя (**ADD**), 2) индивидуальный канцерогенный риск в течение жизни (**CR**), 3) годовой популяционный канцерогенный риск в каждом районе и по городу в целом (**PCR**). Сделать вывод о том, какое дополнительное число случаев рака в год провоцирует у населения города присутствие бенз(а)пирена в атмосферном воздухе. *Условие:* все параметры отнесены ко взрослому населению.

Ход выполнения задания

1. Составление таблицы входных данных, включая необходимые для расчета ADD параметры: Ca, Ch, Tout, Tin, Vout, Vin, EF, ED, BW, AT (табл. 4.7).

2. Программирование формул и расчет CR, PCR, а также суммы случаев рака в год (табл. 4.8).

Таблица 4.7

Концентрация бенз(а)пирена в атмосферном воздухе города

Районы	Численность населения	Концентрация, мг/м ³	
		в атмосферном воздухе вне помещений (Ca)	в воздухе жилых помещений (Ch)
Железнодорожный	122200	0,000352	0,000065
Левобережный	184250	0,000432	0,000092
Коминтерновский	235900	0,000978	0,000086
Ленинский	124750	0,000312	0,000019
Советский	189600	0,000457	0,000023
Центральный	87950	0,000098	0,000014

Таблица 4.8

Результаты расчетов индексов канцерогенного риска)*

Район	Численность населения	SF_1	ADD мг/(кг* день)	CR (вероятность)	PCR (число случаев рака в год)
Железнодорожный	122200	3,9	2,699E-05	1,05E-04	0,18
Левобережный	184250	3,9	3,385E-05	1,32E-04	0,35
Коминтерновский	235900	3,9	6,94E-05	2,71E-04	0,91
Ленинский	124750	3,9	2,164E-05	8,44E-05	0,15
Советский	189600	3,9	3,141E-05	1,23E-04	0,33
Центральный	87950	3,9	7,272E-06	2,84E-05	0,04
<i>Итого по городу</i>					<i>1,96</i>

*) 2,699E-05 – научный формат данных, используемый в электронных таблицах MS EXCEL, что равнозначно $2,699 \cdot 10^{-5}$.

Результат (вывод): канцерогенный риск в Железнодорожном, Левобережном, Коминтерновском и Советском районах – приемлем для профессиональных групп и неприемлем для населения в целом (опасный), что требует проведения плановых оздоровительных мероприятий на территории районов. Максимальный риск – вблизи автомагистралей Коминтерновского района. Канцерогенный риск в Ленинском и Цен-

тральном районах соответствует предельно допустимому риску (вызывает беспокойство), но требует постоянного контроля. Присутствие бенз(а)пирена в атмосферном воздухе города в целом провоцирует появление среди населения около **2** дополнительных случаев рака в год.

Лабораторная работа № 83. Оценка неканцерогенного риска, связанного с загрязнением атмосферного воздуха промышленного города

Цель занятия: освоить алгоритм расчета неканцерогенного риска для здоровья населения, обусловленного присутствием в атмосферном воздухе загрязняющих веществ.

Постановка задачи

Ситуационная информация: приведены среднесуточные концентрации (Са) для 6 загрязняющих веществ в атмосферном воздухе по районам промышленно-развитого города. Прилагаются справочные данные из «Руководства по оценке риска..» (2004): референтные концентрации для хронического ингаляционного воздействия и предельно допустимые концентрации загрязняющих веществ в воздухе населенных мест.

Порядок выполнения задания

Рассчитать путем программирования формул в EXCEL: 1) индивидуальный неканцерогенный риск в течение жизни (НQ), 2) годовой популяционный неканцерогенный риск в каждом районе и по городу в целом (РНQ). Сделать вывод о том, в каком районе города неканцерогенный риск максимальный и за счет каких загрязняющих веществ он формируется.

Ход выполнения задания

1. Составление таблицы входных данных, определение по справочникам RfC и ПДК_{сс}, (табл. 4.9).
2. Программирование формул и расчет НQ, РНQ (табл. 4.10).

Таблица 4.9

Исходные данные: загрязняющие вещества и их классы опасности

Углерод оксид	Сера оксид	Азот (II) оксид	Формальдегид	Свинец	Метанол
4	3	3	2	1	3

Результат (вывод): наибольший неканцерогенный риск по исследуемым ингредиентам наблюдается в Левобережном районе, а наименьший – в Ленинском. Приоритетные загрязняющие вещества, создающие максимальный риск (выше допустимого уровня) по районам города: Железнодорожный район – сера диоксид; Левобережный район – углерод оксид, сера диоксид, формальдегид; Центральный район – формальдегид.

Таблица 4.10

Оценка неканцерогенного риска, связанного с загрязнением атмосферы
(данные: *а* – фактические, *б* – справочные, *в* – расчетные)

<i>а</i>	<i>а</i>	<i>б</i>	<i>б</i>	<i>а</i>	<i>в</i>	<i>в</i>
Район и население (N)	Вещество	RfC	ПДКсс	Ca (мг/м ³)	HQ	PHQ (годовой)
Железнодорожный N=122200	углерод оксид	3,0000	3,0000	2,6500	0,88	1542,0
	сера диоксид	0,0500	0,0500	0,0521	1,04	1819,0
	азот (II) оксид	0,0600	0,0600	0,0560	0,93	1629,3
	формальдегид	0,0030	0,0030	0,0028	0,93	1629,3
	свинец	0,0005	0,0003	0,0002	0,40	698,3
	метанол	4,0000	0,5000	0,4560	0,11	199,0
ИТОГО (HI)					4,31	7517,0
Левобережный N=184250	углерод оксид	3,0000	3,0000	3,8970	1,30	3419,2
	сера диоксид	0,0500	0,0500	0,0641	1,28	3374,4
	азот (II) оксид	0,0600	0,0600	0,0090	0,15	394,8
	формальдегид	0,0030	0,0030	0,0054	1,80	4737,9
	свинец	0,0005	0,0003	0,0002	0,40	1052,9
	метанол	4,0000	0,5000	0,0850	0,02	55,9
ИТОГО (HI)					4,95	13035,0
Коминтерновский N=235900	углерод оксид	3,0000	3,0000	2,7159	0,91	3050,9
	сера диоксид	0,0500	0,0500	0,0487	0,97	3282,4
	азот (II) оксид	0,0600	0,0600	0,0352	0,59	1977,1
	формальдегид	0,0030	0,0030	0,0012	0,40	1348,0
	свинец	0,0005	0,0003	0,0004	0,80	2696,0
	метанол	4,0000	0,5000	0,2900	0,07	244,3
ИТОГО (HI)					3,74	12598,6
Ленинский N=124750	углерод оксид	3,0000	3,0000	1,6790	0,56	997,4
	сера диоксид	0,0500	0,0500	0,0067	0,13	238,8
	азот (II) оксид	0,0600	0,0600	0,0348	0,58	1033,6
	формальдегид	0,0030	0,0030	0,0008	0,27	475,2
	свинец	0,0005	0,0003	0,0001	0,20	356,4
	метанол	4,0000	0,5000	0,4700	0,12	209,4
ИТОГО (HI)					1,86	3310,9
Советский N=189600	углерод оксид	3,0000	3,0000	1,5600	0,52	1408,5
	сера диоксид	0,0500	0,0500	0,0089	0,18	482,1
	азот (II) оксид	0,0600	0,0600	0,0289	0,48	1304,6
	формальдегид	0,0030	0,0030	0,0021	0,70	1896,0
	свинец	0,0005	0,0003	0,0002	0,40	1083,4
	метанол	4,0000	0,5000	0,1340	0,03	90,7
ИТОГО (HI)					2,31	6265,4

<i>a</i>	<i>a</i>	<i>б</i>	<i>б</i>	<i>a</i>	<i>в</i>	<i>в</i>
Район и население (N)	Вещество	RfC	ПДКсс	Ca (мг/м ³)	HQ	PHQ (годовой)
Центральный N=87950	углерод оксид	3,0000	3,0000	2,8900	0,96	1210,4
	сера диоксид	0,0500	0,0500	0,0073	0,15	183,4
	азот (II) оксид	0,0600	0,0600	0,0303	0,51	634,5
	формальдегид	0,0030	0,0030	0,0032	1,07	1340,2
	свинец	0,0005	0,0003	0,0002	0,40	502,6
	метанол	4,0000	0,5000	0,3700	0,09	116,2
ИТОГО (HI)					3,17	3987,3
ИТОГО (HI) по городу						46714,3

Загрязнение воздуха в целом способствует проявлению около **46714** токсических синдромов и неканцерогенных заболеваний среди населения города ежегодно.

Лабораторная работа № 84. Оценка канцерогенного риска, обусловленного качеством питьевой воды

Цель занятия: освоить алгоритм расчета канцерогенного риска для здоровья населения, обусловленного присутствием загрязняющих веществ в питьевой воде.

Постановка задачи

Ситуационная информация: приведены среднесуточные концентрации трех канцерогенных веществ в питьевой воде: а) тетрахлорэтилен, б) хлороформ, в) гексахлорэтан - по районам промышленно-развитого города. Факторы канцерогенного потенциала (SF_0) составляют соответственно: а) 0,052; б) 0,0061 и в) 0,014 мг/(кг*день).

Порядок выполнения задания

Рассчитать путем программирования формул в MS EXCEL: 1) среднесуточную дозу загрязнителя (**ADD**), 2) индивидуальный канцерогенный риск в течение жизни (**CR**), 3) годовой популяционный канцерогенный риск в каждом районе и по городу в целом (**PCR**).

Сделать вывод о том, какое дополнительное число случаев рака в год провоцирует у населения города присутствие указанных канцерогенов в питьевой воде. *Условие:* все параметры отнесены к взрослому населению.

Ход выполнения задания

1. Составление таблицы входных данных, включая необходимые для расчета ADD параметры: C_w , V , EF , ED , BW , AT (табл. 4.11). 2. Программирование формул и расчет CR, PCR, а также суммы случаев рака в год (табл. 4.12).

Таблица 4.11

Концентрации загрязняющих веществ в питьевой воде города

Районы	Численность населения	Концентрация (Cw), мг/л		
		тетрахлор-этилен	хлороформ	гексахлор-этан
Железнодорожный	122200	0,574	0,095	0,008
Левобережный	184250	0,342	0,012	0,176
Коминтерновский	235900	0,107	0,048	0,654
Ленинский	124750	0,674	0,261	0,008
Советский	189600	0,129	0,076	0,178
Центральный	87950	0,087	0,532	0,342

Таблица 4.12

Результаты расчетов индексов канцерогенного риска^{)}*

Район и население	Вещества	SF_0	ADD мг/(кг* день)	CR (вероятность)	PCR (число случаев рака в год)
Железнодорожный 122200	тетрахлорэтилен	0,052	0,00674	3,50E-04	0,6118
	хлороформ	0,0061	0,001115	6,80E-06	0,0119
	гексахлорэтан	0,014	9,39E-05	1,32E-06	0,0023
Левобережный 184250	тетрахлорэтилен	0,052	0,004016	2,09E-04	0,5496
	хлороформ	0,0061	0,000141	8,59E-07	0,0023
	гексахлорэтан	0,014	0,002067	2,89E-05	0,0762
Коминтерновский 235900	тетрахлорэтилен	0,052	0,001256	6,53E-05	0,2202
	хлороформ	0,0061	0,000564	3,44E-06	0,0116
	гексахлорэтан	0,014	0,007679	1,08E-04	0,3623
Ленинский 124750	тетрахлорэтилен	0,052	0,007914	4,12E-04	0,7334
	хлороформ	0,0061	0,003065	1,87E-05	0,0333
	гексахлорэтан	0,014	9,39E-05	1,32E-06	0,0023
Советский 189600	тетрахлорэтилен	0,052	0,001515	7,88E-05	0,2133
	хлороформ	0,0061	0,000892	5,44E-06	0,0147
	гексахлорэтан	0,014	0,00209	2,93E-05	0,0793
Центральный 87950	тетрахлорэтилен	0,052	0,001022	5,31E-05	0,0667
	хлороформ	0,0061	0,006247	3,81E-05	0,0479
	гексахлорэтан	0,014	0,004016	5,62E-05	0,0706
Итого по городу					3,11

*) 9,39E-05 – экспоненциальный формат данных, используемый в электронных таблицах MS EXCEL, что равнозначно $9,39 \cdot 10^{-5}$.

Результат (вывод): канцерогенный риск по тетрахлорэтилену в Железнодорожном, Левобережном и Ленинском районах, а также по гек-

сахлорэтану в Коминтерновском районах – приемлем для профессиональных групп и неприемлем для населения в целом (опасный), что требует проведения доочистки воды разводящей сети на территории районов.

По другим показателям качество воды в целом не вызывает беспокойства. Присутствие канцерогенов в питьевой воде провоцирует появление среди населения города около **3** дополнительных случаев рака в год.

Лабораторная работа № 85. Оценка неканцерогенного риска, обусловленного качеством питьевой воды

Цель занятия: освоить алгоритм расчета неканцерогенного риска для здоровья населения, обусловленного качеством питьевой воды.

Постановка задачи

Ситуационная информация: приведены среднесуточные концентрации (C_w) для 3 загрязняющих веществ в питьевой воде по районам промышленно-развитого города (железо, марганец, нитраты). Прилагаются справочные данные из «Руководства по оценке риска...» (2004): референтные дозы при хроническом пероральном поступлении и предельно допустимые концентрации загрязняющих веществ в питьевой воде.

Порядок выполнения задания

Рассчитать путем программирования формул в MS EXCEL: 1) индивидуальный неканцерогенный риск в течение жизни (**HQ**), 2) годовой популяционный неканцерогенный риск в каждом районе и по городу в целом (**PHQ**). Сделать вывод о том, в каком районе города неканцерогенный риск максимальный и за счет каких загрязняющих веществ он создается.

Ход выполнения задания

1. Составление таблицы входных данных, определение по справочникам RfD и ПДК.

2. Программирование формул и расчет ADD, HQ, PHQ (табл. 4.13).

Результат (вывод): по отдельным загрязняющим веществам риск не превышает допустимого порога, однако суммарный риск в трех из шести районов города превышает 1, что свидетельствует о потенциальной опасности употребления питьевой воды без специальной очистки.

Наибольший суммарный неканцерогенный риск наблюдается в Ленинском и Центральном районах, а наименьший – в Левобережном и Железнодорожном. Максимальный риск создается за счет присутствия в питьевой воде железа и нитратов в Центральном и Ленинском районах, марганца – в Советском и Ленинском районах. Присутствие загрязняющих веществ в питьевой воде провоцирует около **12125** случаев неканцерогенных заболеваний среди населения города ежегодно.

Таблица 4.13

Оценка неканцерогенного риска, связанного с качеством питьевой воды
(данные: *а* – фактические, *б* – справочные, *в* – расчетные)

<i>а</i>	<i>а</i>	<i>б</i>	<i>б</i>	<i>а</i>	<i>в</i>	<i>в</i>	<i>в</i>
Район и население (N)	Вещество	RfD	ПДК	C _w (мг/л)	ADD	HQ	PHQ (годовой)
Железнодорожный N=122200	железо	0,3	0,3	1,23	0,034	0,112	196,1
	марганец	0,14	0,1	0,34	0,009	0,067	116,2
	нитраты	1,6	45	17,6	0,482	0,301	526,1
ИТОГО (HI)						0,480	838,4
Левобережный N=184250	железо	0,3	0,3	1,54	0,042	0,141	370,2
	марганец	0,14	0,1	0,76	0,021	0,149	391,5
	нитраты	1,6	45	12,4	0,340	0,212	558,9
ИТОГО (HI)						0,502	1320,5
Коминтерновский N=235900	железо	0,3	0,3	2,45	0,067	0,224	754,0
	марганец	0,14	0,1	0,98	0,027	0,192	646,3
	нитраты	1,6	45	24,6	0,674	0,421	1419,6
ИТОГО (HI)						0,837	2819,9
Ленинский N=124750	железо	0,3	0,3	7,78	0,213	0,711	1266,2
	марганец	0,14	0,1	2,32	0,064	0,454	809,1
	нитраты	1,6	45	18,9	0,518	0,324	576,8
ИТОГО (HI)						1,488	2652,1
Советский N=189600	железо	0,3	0,3	0,98	0,027	0,089	242,4
	марганец	0,14	0,1	4,18	0,115	0,818	2215,6
	нитраты	1,6	45	10,4	0,285	0,178	482,3
ИТОГО (HI)						1,086	2940,4
Центральный N=87950	железо	0,3	0,3	5,76	0,158	0,526	660,9
	марганец	0,14	0,1	1,05	0,029	0,205	258,2
	нитраты	1,6	45	29,5	0,808	0,505	634,7
ИТОГО (HI)						1,237	1553,8
ИТОГО (HI) по городу							12125,0

Лабораторная работа № 86. Составление типового проекта оценки риска для здоровья населения

Методология и схема расчета рисков

Методы оценки риска для здоровья населения, связанного с воздействием химических веществ, всё шире применяются в природоохранной практике для обоснования размеров санитарно-защитных зон промышленно-транспортных объектов.

По своему функциональному назначению санитарно-защитная зона является защитным барьером, обеспечивающим уровень безопасности населения при эксплуатации объекта в штатном режиме. В соответ-

ствии с санитарной классификацией промышленных объектов и производств устанавливаются следующие ориентировочные размеры санитарно-защитных зон:

- промышленные объекты и производства первого класса – 1000 м;
- промышленные объекты и производства второго класса – 500 м;
- промышленные объекты и производства третьего класса – 300 м;
- промышленные объекты и производства четвертого класса – 100 м;
- промышленные объекты и производства пятого класса – 50 м.

Санитарная классификация промышленных объектов и производств приведена в разделе 7 СанПиН 2.2.1/2.1.1.1200–03. С 1.03.2008 г. новая редакция СанПиН 2.2.1/2.1.1.1200–03 «Санитарно-защитные зоны и санитарная классификация предприятий, сооружений и иных объектов» закрепляет, что «...установление, изменение размеров установленных санитарно-защитных зон для промышленных объектов и производств I и II класса опасности осуществляется ... на основе оценки риска здоровью населения». При этом расчетные параметры должны быть подтверждены результатами натурных исследований атмосферного воздуха.

Кроме того, при принятии решения о возможности сокращения санитарно-защитной зоны промышленного объекта по сравнению с нормативной величиной практикуются расчеты рисков для обоснования того, что выбросы загрязняющих веществ в атмосферный воздух при сокращении санитарно-защитной зоны не создадут угрозы для здоровья и жизни населения, а риск для здоровья будет иметь приемлемый (допустимый) уровень.

В связи с этим, начиная с 2004 г., в практику экологического проектирования введен новый тип проектов – **«Проект оценки риска для здоровья населения»**. Проект оценки риска для здоровья населения служит одним из важных оснований возможности сокращения нормативной санитарно-защитной зоны, а для промышленных объектов I – II классов опасности становится обязательной процедурой и одной из главных превентивных мер по обеспечению экологической безопасности.

Цель занятия: освоить подготовку проекта оценки риска для здоровья населения на примере строящейся блочно-модульной котельной.

Постановка задачи

Ситуационная информация: строительство котельной внутри жилого квартала (взамен двух подвальных котельных, работавших на мазутном топливе). Работа котлоагрегатов предусматривается на природном газе, что снизит количество и объем веществ, поступающих в атмосферный воздух.

Общая теплопроизводительность котельной – 1 Гкал/час. Ближайший жилой дом расположен на расстоянии 30 м в восточном направлении. Оценка риска здоровью населения от проектируемой котельной проводится для обоснования размера санитарно-защитной зоны (СЗЗ) (рис. 4.2).

Приведен перечень загрязняющих веществ, содержащихся в выбросах блочно-модульной котельной и оказывающих воздействие на критические органы и системы. Даны их расчетные среднесуточные концентрации (Ca) в приземном слое атмосферного воздуха в 8 контрольных точках на границе жилой застройки (на расстоянии 30 м).

Для выполнения расчетов требуется персональный компьютер (программная среда MS EXCEL), справочники веществ из Руководства по оценке риска (2004) с табличными приложениями SF, RfC.

Порядок выполнения задания

1. Получить исходные данные у преподавателя (табл. 4.14).
2. Определить справочные данные по «Руководству по оценке риска...» (2004): вещества, обладающие канцерогенным эффектом (найти по «Справочнику» величину SF_i); референтные концентрации по каждому веществу (найти по «Справочнику» величины RfC); критические органы и системы (найти по «Справочнику» для веществ неканцерогенных).
3. Рассчитать риски (путем программирования формул в MS EXCEL): среднесуточную дозу (ADD) и индивидуальный канцерогенный риск (CR) от воздействия канцерогенных веществ; коэффициенты опасности (HQ) каждого из веществ; индексы опасности (HI), характеризующие неканцерогенный риск при однонаправленном воздействии веществ (на критические органы и системы); суммарные риски (CI, HI) в зависимости от конкретных ситуаций (если выявляется несколько канцерогенов или веществ, обладающих неканцерогенным эффектом).

Внимание! Все параметры отнесены к взрослому населению; концентрации загрязнителей в атмосферном воздухе и помещении принять одинаковыми (табл. 4.14).

4. Сделать вывод о возможности установления СЗЗ в 30 м.

Примечание. При описании расчетов канцерогенного риска, который, как правило, принимает значения, значительно меньше 1, часто используют экспоненциальный формат записи числа (индекса риска), применяемый в MS EXCEL. Например, величина $CR = 0,0000567$ (обычный числовой формат) в экспоненциальном формате $CR = 5,67E-05$ или $CR = 5,67 \cdot 10^{-5}$, что в содержательном плане означает вероятность заболевания раком примерно 6 человек из 100 тыс. населения.

4. Результат (вывод): канцерогенный риск для здоровья населения от воздействия бенз(а)пирена, присутствующего в выбросах от котельной, составляет от $9,74 \cdot 10^{-8}$ до $3,90 \cdot 10^{-7}$, т.е. приблизительно 1–4 случаев онкологических заболеваний на 10 млн населения в течение средней продолжительности жизни, что по критериям приемлемости ниже величины целевого риска, принятого для условий населенных мест в России (10^{-5} – 10^{-6}) и не вызывает беспокойства.

Этап 1: Составление таблицы исходных данных

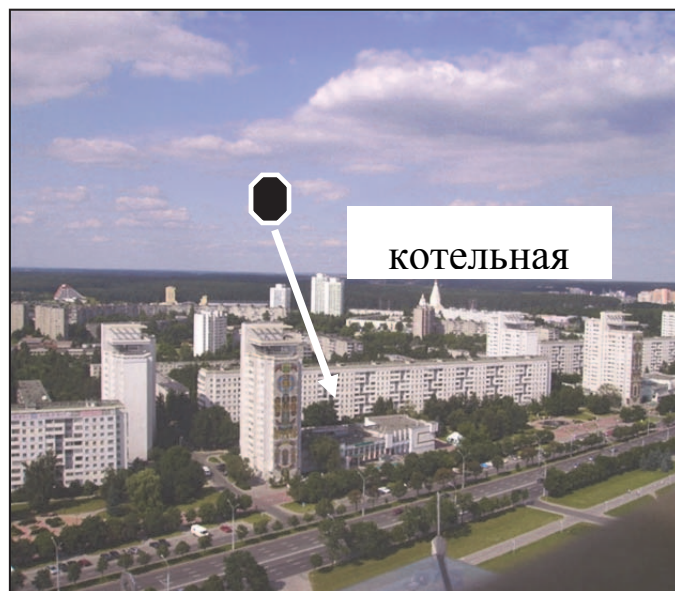


Рис. 4.2. Схема /условный план/ расположения объекта

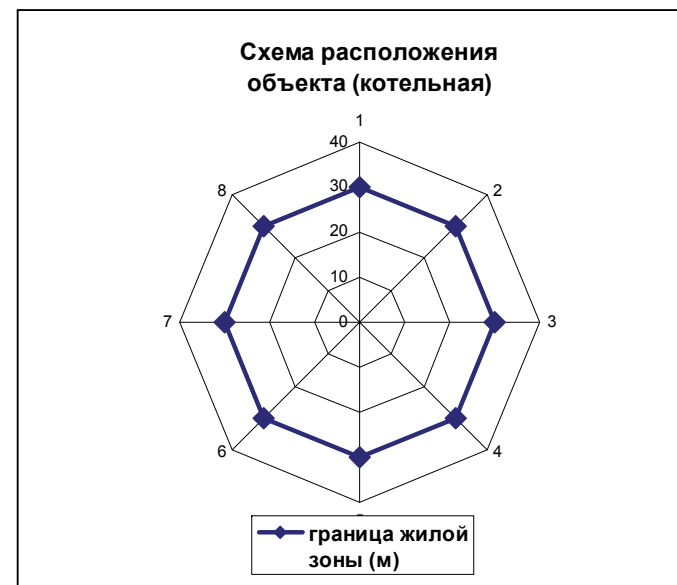


Таблица 4.14

Расчетные среднесуточные концентрации загрязняющих веществ, выбрасываемых в атмосферный воздух, C_a , $мг/м^3$

Наименования веществ	Контрольные точки (по румбам розы ветров)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Азот (IV) оксид (азота диоксид)	0,00178	0,00204	0,00153	0,00204	0,00076	0,00512	0,00698	0,00306
Азот (II) оксид (азота оксид)	0,0021	0,0021	0,0022	0,0004	0,0006	0,0036	0,0039	0,0031
Углерод оксид	0,011	0,014	0,008	0,002	0,009	0,028	0,037	0,014
Бенз(а)пирен	0,0000004	0,0000006	0,0000007	0,0000002	0,0000005	0,0000008	0,0000005	0,0000004

Этапы: 2, 3 – а. Расчет канцерогенного риска

Таблица 4.15 а

Справочные величины и расчет канцерогенного риска

Наименование вещества	SF _i	Уровни канцерогенного риска (CR) в контрольных точках							
		1	2	3	4	5	6	7	8
бенз(а)пирен	3,9	1,95E-07	2,92E-07	3,41E-07	9,74E-08	2,44E-07	3,90E-07	2,44E-07	1,95E-07
Сумма рисков (CI)		1,95E-07	2,92E-07	3,41E-07	9,74E-08	2,44E-07	3,90E-07	2,44E-07	1,95E-07

Этапы: 2, 3 – б. Справочные величины и расчет неканцерогенного риска

Таблица 4.15 б

Справочные величины и расчет неканцерогенного риска

Наименования веществ	RfC	Параметры	Коэффициенты (HQ), индексы (HI) опасности							
			1	2	3	4	5	6	7	8
Азот (IV) оксид	0,04	HQ	0,045	0,051	0,038	0,051	0,019	0,128	0,175	0,077
Азот (II) оксид	0,06	HQ	0,035	0,035	0,037	0,007	0,010	0,060	0,065	0,052
Углерод оксид	3,00	HQ	0,004	0,005	0,003	0,001	0,003	0,009	0,012	0,005
Бенз(а)пирен	1*10 ⁻⁶	HQ	0,400	0,600	0,700	0,200	0,500	0,800	0,500	0,400
Сумма коэфф. опасности (HI)			0,483	0,691	0,778	0,258	0,532	0,997	0,752	0,533
HI (при хроническом воздействии на органы дыхания)			0,080	0,086	0,075	0,058	0,029	0,188	0,240	0,128
HI (при хроническом воздействии на кровь)			0,083	0,091	0,078	0,058	0,032	0,197	0,252	0,133

Неканцерогенный риск для здоровья населения от воздействия оксида азота, диоксида азота, оксида углерода, бенз(а)пирена, содержащихся в выбросах от котельной, не превышает 1, что характеризуется как допустимое воздействие на здоровье.

В точке № 6 суммарный неканцерогенный риск достигает величины, близкой к 1, т.е. величины предельно допустимого риска, вызывающего беспокойство. Однако, при однонаправленном хроническом ингаляционном воздействии на критические органы и системы (органы дыхания, кровь) индексы опасности значительно ниже 1, т.е. не вызывают беспокойства.

Таким образом, по результатам оценки риска для здоровья населения, связанного с присутствием в атмосфере загрязняющих веществ, выбрасываемых от котельной, установлено: неблагоприятное воздействие на здоровье населения, проживающего в 30-метровой зоне воздействия котельной, характеризуется как допустимое; возможно установление санитарно-защитной зоны строящейся котельной в 30 м.

Результаты данной практической работы использованы при составлении типового проекта оценки риска для здоровья населения.

Состав и содержание типового проекта оценки риска для здоровья населения

Структура типового проекта по оценке риска здоровью населения, обусловленного воздействием химических загрязнителей окружающей среды, включает следующие разделы:

Титул. Форма титульного листа представлена на рис. 4.3.

Введение (где приводятся основные нормативные документы в соответствии с которыми выполнен проект, цель и решаемые задачи проекта).

1. Идентификация опасности.

2. Оценка зависимости «доза–ответ».

3. Оценка экспозиции.

4. Характеристика риска для здоровья населения.

Выводы (где приводятся основные результаты оценки риска и даются рекомендации по его снижению).

Приложения (дополнительные материалы при необходимости).

На титульном листе проекта указываются реквизиты организации исполнителя, наименование проекта, год выполнения, а также обязательно дается информация об аттестате аккредитации органа по оценке риска организации, выполняющей проект.

В настоящее время аккредитация организаций в области выполнения проектов по оценке риска осуществляется Федеральным бюджетным учреждением здравоохранения «Федеральный центр гигиены и эпидемиологии» Роспотребнадзора (г. Москва).

НАИМЕНОВАНИЕ МИНИСТЕРСТВА РФ НАИМЕНОВАНИЕ УЧРЕЖДЕНИЯ, ВЫПОЛНЯЮЩЕГО ПРОЕКТ АККРЕДИТОВАННЫЙ ОРГАН ПО ОЦЕНКЕ РИСКА	
Юридический адрес	почтовый индекс, город, улица, дом.
Телефон, факс	
АТТЕСТАТ аккредитации органа по оценке риска №.###.### Зарегистрирован в Реестре Системы (число, месяц, год)	УТВЕРЖДАЮ Руководитель аккредитованного органа по оценке риска « ____ » _____ 20__ г.
ОЦЕНКА РИСКА ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ НАСЕЛЕНИЯ ОТ ИСТОЧНИКОВ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУ- ХА БЛОЧНО-МОДУЛЬНОЙ КОТЕЛЬНОЙ ПО УЛ. N ГОРОДА N	
город N 20__ г.	

Рис. 4.3. Образец титульного листа проекта по оценке риска

В данном разделе рассмотрен пример типового проекта по оценке риска здоровью населения, обусловленного воздействием выбросов загрязняющих веществ в атмосферный воздух от блочно-модульной котельной, расположенной в жилом квартале города.

Некоторые составляющие проекта упрощены с целью улучшения восприятия его структуры для учебных задач. Это касается количества учитываемых загрязняющих веществ, которых в реальной ситуации может быть значительно больше (в примере - 4 вещества); детального рассмотрения неблагоприятного воздействия выбросов загрязняющих веществ на отдельные популяционные группы - детей, подростков, взрослых (в примере риск оценен для взрослого населения) и некоторых других технических деталей проекта.

Введение

Оценка риска здоровью населения от источников загрязнения атмосферного воздуха блочно-модульной котельной по ул. N, населенного пункта N, выполнена в соответствии с нормативными и правовыми документами:

- Федеральный закон «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» от 30.03.1999, № 52-ФЗ.
 - Федеральный закон «О техническом регулировании» от 27.12.2002, № 184-ФЗ.
 - Постановление Правительства Российской Федерации от 15.02.2006, № 60 «Об утверждении Положения о проведении социально-гигиенического мониторинга».
 - Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации № 25 от 10.11.1997 и Главного государственного инспектора Российской Федерации по охране природы № 03-19/24-3483 от 10.11.1997 «Об использовании методологии оценки риска для управления качеством окружающей среды и здоровья населения в Российской Федерации».
 - ГН 2.1.6.3492-17 "Предельно допустимые концентрации (ПДК) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе городских и сельских поселений.
 - ГН 2.1.6.2309-07 "Ориентировочные безопасные уровни воздействия (ОБУВ) загрязняющих веществ в атмосферном воздухе населенных мест" с последующими дополнениями и изменениями.
 - СанПиН 1.2.2353-08 "Канцерогенные факторы и основные требования к профилактике канцерогенной опасности".
 - Методы расчета рассеивания выбросов вредных (загрязняющих) веществ в атмосферном воздухе (Утв. Приказом Минприроды от 06.06.2017 г. №273).
 - ОНД-90 Руководство по контролю источников загрязнения атмосферы. С-Пб., 1992.
 - Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду (Р 2.1.10.1920 – 04). – М. : Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.
 - СанПиН 2.2.1/2.1.1.1200-03 «Санитарно-защитные зоны и санитарная классификация предприятий, сооружений и иных объектов» (в ред. Изменения № 1, утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 10.04.2008 № 25, Изменения № 2, утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 06.10.2009 № 61, Изменений и дополнений № 3, утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 09.09.2010 № 122).
- Целью** проекта явилась оценка риска здоровью населения от загрязнения атмосферного воздуха выбросами блочно-модульной котельной по ул. N населенного пункта N для обоснования размера санитарно-защитной зоны.

В качестве методической основы использовалась методология оценки риска в соответствии с «Руководством по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду» Р.2.1.10.1920-04, утвержденным главным государственным санитарным врачом Российской Федерации 5 марта 2004 года.

Основными этапами данной работы явились:

- идентификация опасности, предусматривающая выявление всех потенциальных источников загрязнения атмосферного воздуха, а также отбор приоритетных факторов, подлежащих углубленному исследованию в процессе оценки риска;
- оценка зависимости «доза–ответ» для определения количественной характеристики связей между концентрацией, экспозицией изучаемого вещества и вызываемыми им вредными воздействиями;
- оценка экспозиции, предусматривающая характеристику уровней, продолжительность, частоту и пути воздействия исследуемых загрязнителей, а также определение потенциально экспонированного населения (т.е. населения, подвергающегося воздействию оцениваемых факторов);
- характеристика риска, предусматривающая установление источников возникновения и степени выраженности рисков для здоровья населения с целью последующего использования на стадии управления риском.

Данные результаты оценки риска здоровью населения могут быть использованы с целью:

- обоснования приоритетных мероприятий в планах действий по охране окружающей среды и оценки их эффективности;
- организации санитарно-защитных зон.

Раздел 1. Идентификация опасности

На этапе идентификации опасности оценки риска здоровью населения определены загрязняющие вещества с обоснованием их приоритетности с целью дальнейшей оценки их воздействия на здоровье населения.

Блочно-модульная котельная расположена по ул. N населенного пункта N.

Котельная ситуационно расположена во дворе жилых домов, ограниченных ул. А, В, С. Ближайшая жилая застройка – 2-этажный жилой дом – находится на расстоянии 30 метров в восточном направлении от проектируемого объекта.

Блочно-модульная котельная типа БМК–30 с 3-мя котлами КВ-ГМ 1,0-115Н и 3-мя дымовыми трубами по ул. N строится взамен двух лик-

видируемых подвальных котельных, работавших на мазутном топливе, согласно постановлению Администрации города № 001 «О реконструкции встроенных подвальных котельных, отапливающих жилой фонд».

Оценка риска для двух ликвидируемых подвальных котельных, работавших на мазуте показала, что в атмосферный воздух согласно проекта ПДВ поступало 7 ингредиентов: азота диоксид, азота оксид, диоксид серы, оксид углерода, сажа, бенз(а)пирен, мазутная зола (в пересчете на ванадий).

Было установлено, что показатели канцерогенного и неканцерогенного рисков выше приемлемого уровня.

В соответствии с п. 7.1.10. «Производство электрической и тепловой энергии» СанПиН 2.2.1/2.1.1.1200–03 «Санитарно-защитные зоны и санитарная классификация предприятий, сооружений и иных объектов» для котельных тепловой мощностью менее 200 Гкал, работающих на твердом, жидком и газообразном топливе, размер санитарно-защитной зоны устанавливается в каждом конкретном случае на основании расчетов рассеивания загрязнений атмосферного воздуха и физического воздействия на атмосферный воздух (шум, вибрация, ЭМП и др.), а также на основании результатов натурных исследований и измерений.

Общая теплопроизводительность котлов проектируемой котельной составит 1,0 Гкал/час. Режим работы котельной – круглосуточный, круглогодичный; 196 сут/год – отопление, 350 сут/год – горячее водоснабжение.

Работа котлоагрегатов предусматривается на природном газе, что снизит количество и объем загрязняющих веществ, поступающих в атмосферный воздух.

Расход газа на максимально-зимнем режиме составляет 784,0 м³/час (для трех котлов), годовой расход газа – 896 тыс. м³ (в пересчете на нормальные условия).

Выброс продуктов сгорания природного газа осуществляется через три металлических дымовых трубы высотой 31 м и внутренним диаметром 350 мм (источники №№ 0001 – 0003).

В результате процесса горения природного газа в котельной в атмосферный воздух поступает 4 загрязняющих вещества, которые включены в проект предельно-допустимых выбросов (ПДВ): азота диоксид, азота оксид, углерода оксид, бенз(а)пирен общим объемом 0,5443541 тонн/год – летом и 3,7649256 тонн/год – зимой (табл. 4.16).

Наибольший удельный вес в общем объеме выбросов занимает углерода оксид (73,6 – 74,5 %) и азота диоксид (21,9 – 22,6 %).

В проекте размеров санитарно-защитной зоны (СЗЗ) для определения максимальных приземных концентраций загрязняющих веществ в атмосфере выполнен расчет рассеивания выбросов, т.е. определены концентрации загрязняющих веществ в приземном слое воздуха на различных расстояниях и в различных направлениях от источника выбросов.

Поскольку котельная расположена внутриквартально, т.е. со всех сторон окружена жилым фондом, для оценки риска здоровью было выбрано 8 контрольных точек на границе жилой застройки по 8 географическим направлениям (север, северо-восток, восток, юго-восток, юг, юго-запад, запад, северо-запад). При этом расстояния от источника выбросов до жилой застройки (выбранных точек) составили от 30 до 120 метров.

Таблица 4.16

*Перечень загрязняющих веществ блочно-модульной котельной по ул. N
населенного пункта N*

№ п/п	Код	Наимено- вание вещества	CAS	Класс опас- ности	Выброс вещества, т/год (лето)	Удель- ный вес (%)	Выброс вещества, т/год (зима)	Удель- ный вес (%)
1	337	углерода оксид	630-08- 0	4	0,4009600	73,6	2,8067160	74,5
2	301	азота (IV) ок- сид (азота ди- оксид)	10102- 44-0	3	0,1233500	22,6	0,8242650	21,9
3	304	азота (II) оксид (азота оксид)	10102- 43-9	3	0,0200440	3,7	0,1339440	3,5
4	703	бенз(а)пирен	50-32-8	1	0,0000001	0,0...	0,0000006	0,0...
		Всего			0,5443541		3,7649256	

С учетом данных инвентаризации источников выбросов и проекта ПДВ для расчета риска здоровью населения определен перечень, состоящий из 4 загрязняющих веществ, выбрасываемых в атмосферный воздух с учетом следующих критериев:

- объем веществ, совокупный вклад которых в валовый выброс составляет до 95 %;
- канцерогенные свойства веществ;
- принадлежность веществ к перечням приоритетных и особо опасных химических веществ в соответствии с CAS, ЕС, РФ, U.S. EPA.

Ввиду того что общий объем выбросов загрязняющих веществ от котельной в зимнее время в 6,9 раз больше, чем в летнее время, оценка риска здоровью проведена для зимнего времени.

В соответствии с приложением 2 Руководства Р.2.1.10.19-2004 «Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду» были определены потенциальные химические канцерогены, относящиеся к группам 1, 2А, 2В по классификации Международного агентства по изучению рака (МАИР).

Из 4 загрязняющих веществ, поступающих в атмосферный воздух от блочно-модульной котельной, канцерогенным эффектом обладает одно: бенз(а)пирен (табл. 4.17).

Таблица 4.17

Сведения о показателях опасности развития канцерогенных эффектов (ингаляционное воздействие)

№ п/п	Код	CAS	Наименование вещества	Классификация степени доказанности канцерогенности для человека		
				МАИР	EPA	SFi
1.	703	50-32-8	бенз(а)пирен	2A	B2	3,9

В список приоритетных вошли вещества, включенные в перечни приоритетных химических веществ РФ, U.S. EPA, ЕС (табл. 4.18).

Таблица 4.18

Химические вещества, содержащиеся в выбросах блочно-модульной котельной, включенные в оценку риска

№ п/п	Вещество	CAS	Принадлежность к перечням приоритетных и особо опасных веществ		
			РФ	U.S. EPA	ЕС
1	азота (IV) оксид (азота диоксид)	10102-44-0	+	+	+
2	азота (II) оксид	10102-43-9	+	+	+
3	бенз(а)пирен	50-32-8	+	+	+
4	углерода оксид	630-08-0	+	+	+

Таким образом, в список веществ, включенных для последующих расчетов канцерогенного риска с учетом сведений о показателях опасности развития канцерогенных эффектов, вошел бенз(а)пирен.

В проведение расчетов неканцерогенного риска включены 4 загрязнителя: азота диоксид, азота оксид, бенз(а)пирен, углерода оксид.

Раздел 2. Оценка зависимости «доза–ответ»

На данном этапе работы проведен анализ имеющихся данных о гигиенических нормативах, безопасных уровнях воздействия (референтных концентрациях), критических органах/системах и вредных эффектах.

Обобщена информация о безопасных уровнях воздействия приоритетных загрязняющих веществ, поступающих в атмосферу с выбросами от блочно-модульной котельной (табл. 4.19).

Следует отметить, что в 2004–2006 гг. после утверждения «Руководства Р.2.1.10.19-2004» в Российской Федерации активно ведется работа по синхронизации отечественных гигиенических нормативов с данными о безопасном уровне воздействия, принятыми в мировой практике. В нашем случае среднесуточные предельно допустимые концентрации и референтные концентрации, принятые в мировой практике, идентичны.

Таблица 4.19

Перечень приоритетных загрязняющих веществ блочно-модульной котельной с указанием предельно допустимых среднесуточных концентраций (ПДК_{с.с.}) и референтных концентраций (RfC)

№ п/п	Код	CAS	Наименование вещества	ПДК _{с.с.} , мг/м ³	RfC, мг/м ³
1	301	10102-44-0	азота (IV) оксид (азота диоксид)	0,04	0,04
2	304	10102-43-9	азота (II) оксид	0,06	0,06
3	703	50-32-8	бенз(а)пирен	0,000001	0,000001
4	337	630-08-0	углерода оксид	3,0	3,0

Для приоритетных загрязняющих веществ указаны критические органы и системы (табл. 4.20).

Таблица 4.20

Перечень приоритетных химических веществ, содержащихся в выбросах блочно-модульной котельной и оказывающих воздействие на критические органы и системы

CAS	Наименование вещества	Критические органы и системы
10102-44-0	азота (IV) оксид (азота диоксид)	органы дыхания, кровь (образование MetHb)
10102-43-9	азота (II) оксид	органы дыхания, кровь (образование MetHb)
50-32-8	бенз(а)пирен	рак, иммунная система, влияние на развитие организма
630-08-0	углерода оксид	центральная нервная система, сердечно-сосудистая система, развитие, кровь

Была изучена токсикологическая характеристика химических веществ с точки зрения вызываемых эффектов при хроническом воздействии при ингаляционном пути поступления в организм [Вредные вещества..., 2004, 2005].

Диоксид азота. Обладает выраженным раздражающим и прижигающим действием на дыхательные пути, что приводит к развитию токсического отека легких; угнетает аэробное и стимулирует анаэробное окисление в легочной ткани. Не исключена возможность общего действия, в том числе за счет всасывающихся в кровь с поверхности легких продуктов клеточного распада.

Установлено, что испытуемые не чувствовали запаха и раздражения при постепенном увеличении концентрации от 0 до 0,05 мг/дм³ в течение 54 мин. При более высоких концентрациях наблюдаются тяжелые отравления, вплоть до смертельных. Вдыхание в течение 5 мин 0,51–0,76 мг/дм³ вызывает бронхопневмонию; 0,95 мг/дм³ – отек легких в течение 5 мин.

Азота (II) оксид. Кровяной яд, переводит оксигемоглобин в метгемоглобин и оказывает прямое действие на центральную нервную систему.

Начальные явления при остром отравлении – общая слабость, головокружение, онемение ног. При отравлениях средней тяжести резкая слабость и головокружение продолжаются много часов. При тяжелом отравлении – синюшность губ; мягкий, слабого наполнения пульс; легкий озноб; изменение цвета крови. Последствия отравления проявляются длительное время (более года) и выражаются в нарушении ассоциативных способностей, ослаблении памяти, мышечной силы. Описаны также парез лицевых мышц, нарушения чувствительности кожи, общая слабость, легкая утомляемость, напряжение мышц шеи, затрудняющее поворачивание головы, приступы резких головных болей, иногда повторяющиеся головокружения при явлениях сердечной слабости, поздно развивающиеся психозы с шизофренической симптоматикой.

Оксид углерода (II). Для диагностики хронического отравления важно наличие соответствующего производственного анамнеза, клинической картины (астения, энцефалопатия, расстройства дыхания и функции сердечно-сосудистой системы) и наличие СОHb в крови выше уровня нормы.

Описаны хронические отравления при непрерывном вдыхании воздуха, содержащего 0,01–0,05 мг/дм³ СО, в крови обнаруживалось 3–13 % СО. Первые симптомы появляются обычно через 2–3 месяца после начала работы в контакте с СО. Работающие жалуются на шум в голове и головные боли, особенно во время работы и по утрам, головокружение (особенно, когда смотрят вверх), ощущение угара, повышенную утомляемость, ослабление памяти и внимания, апатию и раздражительность, шум в ушах, повышенную чувствительность к звуковым раздражителям, тошноту, отсутствие аппетита, бессонницу ночью и сонливость днем, бледность, сероватый цвет кожи, навязчивый страх, чувство сердечной тоски, одышку, сердцебиения, боли в области сердца, в груди и боках, в подложечной области, в суставах, невралгические боли, потливость, учащенные позывы к мочеиспусканию, иногда – на обморочное состояние после работы. Отмечаются стойкий ярко-красный дермографизм,

дрожание конечностей, экстрапирамидные расстройства – нарушение координации движений, прыгающая походка, понижение или усиление сухожильных рефлексов, тремор пальцев вытянутых рук, лабиринтные нарушения, нистагм при поворотах головы и вращении тела, расстройства кожной чувствительности, вялость или полное отсутствие зрачковых реакций, невриты и полиневриты. Возможны расстройства речи, невралгии, в тяжелых случаях – парезы, в частности, лицевого нерва (маскообразное лицо), энцефалопатии, психозы (деменции, шизофреноподобные состояния и др.), апоплектиформные и эпилептиформные судорожные припадки. Иногда картина расстройства центральной нервной системы напоминает паркинсонизм. Могут быть церебрососудистые и диэнцефальные кризы, усиленная потливость кистей рук, акроцианоз, трофические расстройства кожи, крапивница, атрофия мышц, иногда преждевременное поседение и выпадение волос.

При хронических отравлениях наблюдаются более тяжелые заболевания сердечно-сосудистой системы, чем при острых, особенно у лиц, занимающихся физическим трудом. Отмечаются аритмия, учащение пульса, экстрасистолия, неустойчивость пульса и кровяного давления со склонностью к снижению последнего, но изредка могут развиваться гипертоническая болезнь, стенокардические явления.

Бенз(а)пирен. Является типичным представителем полициклических ароматических углеводородов. Его канцерогенный эффект рассматривается во взаимодействии с другими химическими веществами сложного состава – сажами, смолами, маслами, для которых получены достоверные доказательства канцерогенности. Эколого-эпидемиологические исследования, проведенные в различных странах мира, показывают увеличение показателей смертности и заболеваемости населения раком легких в ряде промышленных городов.

Неопределенности этапа оценки зависимости «доза – ответ»

Основными неопределенностями, которые могут иметь место при проведении оценки зависимости «доза/концентрация – ответ», являются следующие:

- связанные с установлением референтного уровня воздействия;
- обусловленные переносом результатов эпидемиологических исследований на оцениваемую экспонируемую популяцию;
- связанные с установлением степени доказанности канцерогенного эффекта у человека;
- в определении критических органов/систем и вредных эффектов;
- связанные с незнанием механизмов взаимодействия компонентов смесей химических веществ или особенностей

токсикокинетики и токсикодинамики при разных путях поступления вредного вещества в организм и при одновременном его поступлении разными путями.

Раздел 3. Оценка экспозиции

Целью данного этапа оценки риска здоровью населения являлась оценка экспозиции, предусматривающая характеристику уровней, продолжительность, частоту и пути воздействия исследуемых загрязнителей.

Характеристика зоны воздействия

Район расположения котельной относится ко II климатической зоне.

Климат г. Н умеренно-континентальный. Средняя годовая температура воздуха +5,6 °С, самый холодный месяц – январь – 9,8 °С, самый теплый – июль +25,9 °С (максимальная температура достигает 41°С).

Метеорологические характеристики и коэффициенты приведены в табл. 4.21.

Таблица 4.21

Метеорологическая характеристика

Наименование характеристик	Величина
Тип климата	II В
Коэффициент, зависящий от стратификации атмосферы, А	180
Коэффициент рельефа местности	1
Средняя максимальная температура воздуха наиболее теплого месяца, °С	25,9
Средняя минимальная температура воздуха наиболее холодного периода, °С	–9,3
Количество осадков за ноябрь–март, мм	172
Количество осадков за апрель–октябрь, мм	367
Преобладающее направление ветра за декабрь–февраль	З
Преобладающее направление ветра за июнь–август	С
Максимальная из средних скоростей ветра по румбам за январь, м/с	5,1
Минимальная из средних скоростей ветра по румбам за июль, м/с	3,3
Среднегодовая роза ветров, %:	
С	12
СВ	11
В	10
ЮВ	14
Ю	13
ЮЗ	11
З	18
СЗ	11
штиль	14

В среднем за год в г. N преобладает западное направление ветра (15 %), в холодное полугодие – юго-восточное (17–23 %). Наиболее часто наблюдается скорость 2–5 м/с (56 %), малые скорости ветра 0–1 м/с бывают в 29 % случаев, 5-процентную повторяемость имеют ветры со скоростью выше 8 м/с. В среднем за год наблюдается 14 дней со скоростью ветра 15 м/с и более.

В годовом ходе скоростей ветра наибольшие скорости наблюдаются в холодный период года (3,4–3,6 м/с), наименьшие – в теплый период (2,3–2,5 м/с). В суточном ходе наибольшие скорости ветра наблюдаются в послеполуденные часы, минимальные – утром и ночью. Характерна высокая относительная влажность воздуха, в холодное время года – 83–87 %, в теплое – 60–64 %.

г. N располагается в зоне умеренного метеорологического потенциала загрязнения. В среднем наблюдается 45 дней с туманом, в отдельные годы число дней с туманом может достигать 79. Средняя продолжительность туманов за год – 234 часа, наибольшая – 500. За год наблюдается 199 дней с приземными инверсиями. В годовом ходе максимум приземных инверсий отмечается в летние месяцы. При этом в 11 % годового времени можно ожидать сочетания приземных инверсий с малыми скоростями ветра, в июле-сентябре – в 14–17 %. Сочетание приземных инверсий с туманом и малыми скоростями ветра в холодное полугодие наблюдается в 2–4 % случаев, в теплое – менее 1 %. Приподнятые инверсии с высотой нижней границы не более 250 м над трубой наблюдаются в 48 днях в году. Наиболее часто они бывают в зимние месяцы в ночные часы.

Рельеф местности спокойный, на рассеивание вредных веществ не влияет. Преобладающие направления ветра северное и западное.

Для оценки риска здоровью принят ингаляционный путь поступления загрязняющих веществ в организм (табл. 4.22).

Таблица 4.22

Сценарий экспозиции

Среда	Пути поступления		
	ингаляция	перорально	накожно
Атмосферный воздух	+	–	–

Исходными данными для расчета риска здоровью населения, обусловленного воздействием химических загрязнителей, содержащихся в выбросах от котельной, являлись расчетные среднесуточные концентрации веществ в приземном слое атмосферного воздуха (на высоте 2 метра от поверхности земли).

Результаты расчета среднесуточных концентраций загрязняющих веществ по восьми контрольным точкам территории влияния выбросов от блочно-модульной котельной представлены в табл. 4.23.

Таблица 4.23

*Расчетные среднесуточные концентрации загрязняющих веществ, выбрасываемых в атмосферный воздух,
Ca, мг/м³ (исходные данные для оценки риска здоровью)*

№ п/п	Код	Наимено- вание веществ	CAS	Контрольные точки							
				1	2	3	4	5	6	7	8
1	301	азота (IV) оксид (азота диоксид)	10102- 44-0	0,00178	0,00204	0,00153	0,00204	0,00076	0,00512	0,00698	0,00306
2	304	азота (II) оксид (азота оксид)	10102- 43-9	0,0021	0,0021	0,0022	0,0004	0,0006	0,0036	0,0039	0,0031
3	337	углерода оксид	630- 08-0	0,011	0,014	0,008	0,002	0,009	0,028	0,037	0,014
4	703	бенз(а)пирен	50-32 -8	0,0000004	0,0000006	0,0000007	0,0000002	0,0000005	0,0000008	0,0000005	0,0000004

Неопределенности этапа «Оценка экспозиции»

- расчет проводился в соответствии с "Методами расчета рассеивания выбросов вредных (загрязняющих) веществ в атмосферном воздухе" (Утв. Приказом Минприроды от 06.06.2017 г. №273). Определялись расчетные максимально разовые концентрации в приземном слое атмосферного воздуха. При этом проводился последующий их пересчет для определения среднесуточных концентраций.

- Исходными данными для расчета концентраций загрязняющих веществ в приземном слое атмосферного воздуха являются сведения об объеме выбросов и характеристики источника. При этом погрешности расчетов концентраций достаточно хорошо известны и составляют 10–25%.

- При оценке риска на основе моделей рассеивания загрязняющих веществ в атмосферном воздухе, выбрасываемых источниками котельной, не учитывался вклад в формирование величины концентрации загрязняющих веществ в приземном слое других источников (промышленных предприятий и автотранспорта), поэтому полученные результаты характеризуют информационную картину только от воздействия источников загрязнения данной котельной.

- Работа была связана также с условностью выбранного сценария воздействия, не учитывающего специфические аспекты суточной деятельности населения разных возрастных и половых групп, в частности, время, которое потенциально экспонируемая популяция проводит на оцениваемой территории.

Раздел 4. Характеристика риска для здоровья населения

На данном этапе работы проведен расчет индивидуального канцерогенного риска для 1 химического вещества, обладающего канцерогенным эффектом и поступающего в организм человека ингаляционным путем: бенз(а)пирена.

Расчет осуществлялся с использованием данных о величине экспозиции и значениях факторов канцерогенного потенциала по формуле (4.10)

$$CR = ADD \cdot SF, \quad (4.10)$$

где ADD – среднесуточная доза в течение жизни, мг/кг в день; SF – фактор наклона, $(\text{мг}/(\text{кг} \times \text{день}))^{-1}$.

Среднесуточная доза загрязнителя (мг/кг в день) определялась по формуле (4.3)

$$ADD = \frac{((Ca \cdot Tout \cdot Vout) + (Ch \cdot Tin \cdot Vin)) \cdot EF \cdot ED}{BW \cdot AT \cdot 365} . \quad (4.3)$$

При этом использовались стандартные значения показателей экспозиции:

T_{out} – время, проводимое вне помещений – 8 ч/день;

T_{in} – время, проводимое внутри помещений – 16 ч/день;

V_{out} – скорость дыхания вне помещений – 1,4 м³/час;

V_{in} – скорость дыхания внутри помещения – 0,63 м³/час;

EF – частота воздействия – 350 дней/год;

ED – продолжительность воздействия – 30 лет;

BW – масса тела – 70 кг;

AT – период осреднения экспозиции – 70 лет.

Принято, что концентрация внутри помещения равна концентрации вне помещения.

Результаты расчета показателя индивидуального канцерогенного риска приведены в табл. 4.24.

Установлено, что показатели индивидуального канцерогенного риска здоровью, обусловленного вероятным воздействием бенз(а)пирена, составляют от $9,74 \cdot 10^{-8}$ до $3,90 \cdot 10^{-7}$ (точки 4, 6).

Такие величины в соответствии с критериями приемлемости риска ниже величины целевого риска, принятого для условий населенных мест в России (10^{-5} – 10^{-6}) (п.7.6.7 Р 2.1.10.1920–04), и не вызывают опасения.

Оценка риска неканцерогенных эффектов проводилась на основе расчета коэффициентов опасности по формуле (4.11)

$$HQ = Ca/RfC , \quad (4.11)$$

где HQ – коэффициент опасности; Ca – среднесуточная концентрация, мг/м³; RfC – референтная (безопасная концентрация), мг/м³.

Расчет неканцерогенного риска показал, что коэффициенты опасности (HQ) во всех 8 расчетных точках от воздействия четырех загрязняющих веществ: бенз(а)пирена, азота диоксида, азота оксида, углерода оксида - в зоне влияния котельной не превышают единицу и характеризуются как допустимое воздействие на здоровье населения (табл. 4.25).

С учетом однонаправленности воздействия веществ рассчитывался индекс опасности (HI) по формуле (4.12)

$$HI = HQ1 + HQ2 + \dots + HQn , \quad (4.12)$$

где n – число веществ; $HQ_{1...n}$ – коэффициенты опасности для отдельных компонентов смеси воздействующих веществ.

В данном проекте:

- 2 химических вещества (азота диоксид, азота оксид), обладают однонаправленным действием на органы дыхания.
- 3 химических вещества (азота диоксид, азота оксид, углерода оксид) обладают однонаправленным действием на кровь.

Анализ индексов опасности (НИ) этих веществ показал, что суммарный НИ не превышает единицу, т.е. допустимого уровня и составляет в расчетных точках максимально 0,240 – 0,252 (точка 7).

Таким образом, неканцерогенный риск характеризуется как допустимый (табл. 4.25, 4.26, 4.27).

Определение численности экспонированного населения, т.е. населения, подвергающегося воздействию рассматриваемых неблагоприятных факторов, а также определение популяционного канцерогенного и неканцерогенного рисков, в данном проекте не производилось ввиду того, что величины показателей индивидуального канцерогенного риска и суммарного неканцерогенного риска находятся ниже величины приемлемого уровня.

Выводы

1. Канцерогенный риск здоровью от воздействия бенз(а)пирена составляет от $9,74 \times 10^{-8}$ до $3,90 \times 10^{-7}$, т.е. приблизительно 1 – 4 случая онкологических заболеваний на 10 000 000 населения в течение средней продолжительности жизни, что по критериям приемлемости ниже величины целевого риска, принятого для условий населенных мест в России (10^{-5} - 10^{-6}) и не вызывает опасения.

2. Неканцерогенный риск для здоровья населения от воздействия оксида азота, азота диоксида, оксида углерода, бенз(а)пирена, содержащихся в выбросах от котельной по ул. N города N, не превышает единицу и характеризуется как допустимое воздействие на здоровье.

3. При однонаправленном хроническом ингаляционном воздействии на критические органы и системы (органы дыхания, кровь) индексы опасности не превышают единицу. Неблагоприятное воздействие на здоровье характеризуется как допустимое.

4. По результатам оценки риска здоровью населения возможно установление санитарно-защитной зоны котельной в 30 м.

Таблица 4.24

Индивидуальный канцерогенный риск от воздействия бенз(а)пирена, содержащегося в выбросах от котельной

№ п/п	Код	Наименование веществ	CAS	Индивидуальный канцерогенный риск (CR)							
				1	2	3	4	5	6	7	8
1	703	бенз(а)пирен	50-32-8	$1,95 \times 10^{-7}$	$2,92 \times 10^{-7}$	$3,41 \times 10^{-7}$	$9,74 \times 10^{-8}$	$2,44 \times 10^{-7}$	$3,90 \times 10^{-7}$	$2,44 \times 10^{-7}$	$1,95 \times 10^{-7}$

Таблица 4.25

Индексы опасности (неканцерогенный риск) загрязняющих веществ, выбрасываемых в атмосферу от котельной

№ п/п	Код	Наименование веществ	CAS	Коэффициент опасности (HQ)							
				1	2	3	4	5	6	7	8
1	301	азот (IV) оксид (азота диоксид)	10102-44-0	0,045	0,051	0,038	0,051	0,019	0,128	0,175	0,077
2	304	азот (II) оксид (азота оксид)	10102-43-9	0,035	0,035	0,037	0,007	0,010	0,060	0,065	0,052
3	337	углерод оксид	630-08-0	0,004	0,005	0,003	0,001	0,003	0,009	0,012	0,005
4	703	бенз(а)пирен	50-32-8	0,400	0,600	0,700	0,200	0,500	0,800	0,500	0,400
Сумма коэффициентов опасности (HI)				0,483	0,691	0,778	0,258	0,532	0,997	0,752	0,533

Таблица 4.26

Индексы опасности (неканцерогенный риск) загрязняющих веществ при хроническом воздействии на кровь

№ п/п	Код	Наименование веществ	CAS	Коэффициент опасности (HQ)							
				1	2	3	4	5	6	7	8
1	301	азот (IV) оксид (азота диоксид)	10102-44-0	0,045	0,051	0,038	0,051	0,019	0,128	0,175	0,077
2	304	азот (II) оксид (азота оксид)	10102-43-9	0,035	0,035	0,037	0,007	0,010	0,060	0,065	0,052
3	337	углерод оксид	630-08-0	0,004	0,005	0,003	0,001	0,003	0,009	0,012	0,005
Итого				0,083	0,091	0,078	0,058	0,032	0,197	0,252	0,133

Таблица 4.27

Индексы опасности (неканцерогенный риск) загрязняющих веществ при хроническом воздействии на органы дыхания

№ п/п	Код	Наименование веществ	CAS	Коэффициент опасности (HQ)							
				1	2	3	4	5	6	7	8
1	301	азот (IV) оксид (азота диоксид)	10102-44-0	0,045	0,051	0,038	0,051	0,019	0,128	0,175	0,077
2	304	азот (II) оксид (азота оксид)	10102-43-9	0,035	0,035	0,037	0,007	0,010	0,060	0,065	0,052
Итого				0,080	0,086	0,075	0,058	0,029	0,188	0,240	0,128

Рекомендуемая литература

Вредные вещества в окружающей среде. Кислородосодержащие органические соединения. Ч. I: Справочно-энциклопедическое издание / под ред. В.А. Филова, Б.А. Ивина, Ю.И. Мусийчука. – СПб. : АНО НПО «Профессионал», 2004. – 404 с.

Вредные вещества в окружающей среде. Кислородосодержащие органические соединения. Ч. II: Справочно-энциклопедическое издание / под ред. В.А. Филова, Б.А. Ивина, Ю.И. Мусийчука. – СПб. : АНО НПО «Профессионал», 2004. – 344 с.

Вредные вещества в окружающей среде. Кислородосодержащие органические соединения. Ч. III: Справочно-энциклопедическое издание / Под ред. В.А. Филова, Б.А. Ивина, Ю.И. Мусийчука. – СПб. : АНО НПО «Профессионал», 2004. – 308 с.

Вредные вещества в окружающей среде. Элементы I–IV групп периодической системы и их неорганические соединения : справочно-энциклопедическое издание / Под ред. В.А. Филова. – СПб. : АНО НПО «Профессионал», 2005. – 462 с.

Куролап С.А. Интегральная экологическая оценка состояния городской среды / С.А. Куролап, О.В. Клепиков, П.М. Виноградов и др.; под общ. ред. С.А. Куролапа и О.В. Клепикова. – Воронеж : Научная книга, 2015. – 232 с.

Куролап С.А. Практикум по инженерно-экологическому проектированию и оценке риска здоровью : учебное пособие для вузов / С.А. Куролап, О.В. Клепиков, Е.Л. Акимов. – Воронеж : Научная книга, 2016. – 214 с.

Основы оценки риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду / Г.Г. Онищенко, С.М. Новиков, Ю.А. Рахманин и др. ; под ред. Ю.А. Рахманина, Г.Г. Онищенко. – М. : НИИ ЭЧ и ГОС, 2002. – 408 с.

Руководство по оценке риска для здоровья населения при воздействии химических веществ, загрязняющих окружающую среду (Р 2.1.10.1920 – 04). – М. : Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 143 с.

Приложение 1

Показатели и содержание вредных веществ (наиболее часто встречающихся в природных водах на территории Российской Федерации)

Показатели	Нормативы ПДК для вод	
	хозяйственно-питьевого назначения	рыбохозяйственного назначения
Запах при 20 °С, баллы, не более	2	
Вкус и привкус при 20 °С, баллы, не более	2	
Цветность, градусы, не более	20 (35)	
Мутность по станд. шкале, мг/л, не более	1,5 (2,0)	
Водородный показатель (рН)	6,0 – 9,0	6,5 – 8,5
Общая минерализация (сухой остаток), мг/л	не выше 1000(1500)	1000
Жесткость общая, мг-экв/л, не более	7 (10)	7
Окисляемость перманганатная, мг О/л	5,0	
Растворенный кислород, мг/л	не ниже 4	не ниже 6
Х П К, мг О/л, не выше	15	30
Б П К ₅ , мг О ₂ /л, не более	3	2
Нефтепродукты, (суммарно) мг/л, не более	0,1	0,05
СПАВ, (анионоактивные) мг/л, не более	0,5	0,1
Полифосфаты (по PO ₄ ³⁻), мг/л, не более	3,5	0,6
NH ₄ ⁺ (по азоту), мг/л, не более	2	0,5
NO ₂ ⁻ (по азоту), мг/л, не более	1,0	0,02
NO ₂ ⁻ (по NO ₂ ⁻), мг/л, не более	3,3	0,08
NO ₃ ⁻ (по азоту), мг/л, не более	10,2	9,1
NO ₃ ⁻ (по NO ₃ ⁻), мг/л, не более	45	40
Сульфаты (SO ₄ ²⁻), мг/л, не более	500	100
Хлориды (Cl ⁻), мг/л, не более	350	300
Фториды (F ⁻), мг/л, не более	1,5	0,75
Гидрокарбонаты (HCO ₃ ⁻), мг/л, более	500	до 400-500
Цианиды (CN ⁻), мг/л, не более	0,1	0,05
Кальций (Ca ²⁺), мг/л	200	180
Магний (Mg ²⁺), мг/л	100	40
Натрий (Na ⁺), мг/л	200	120
Калий (K ⁺), мг/л		50
Железо (Fe, суммарно) мг/л, не более	0,3 (1,0)	0,1
Кадмий (Cd, суммарно), мг/л, не более	0,001	0,0005
Активированная кремнекислота (по Si), мг/л	10,0	20,0
Марганец (Mn, суммарно), мг/л, не более	0,1 (0,5)	0,01
Медь (Cu, суммарно), мг/л, не более	1,0	0,001
Никель (Ni, суммарно), мг/л, не более	0,1	0,01
Ртуть (Hg, суммарно), мг/л, не более	0,0005	0,0001
Цинк (Zn ²⁺), мг/л, не более	5,0	0,01
Кадмий (Cd ²⁺), мг/л, не более	0,001	0,0005
Свинец (Pb ²⁺), мг/л, не более	0,03	0,01

Приложение 2

Давление паров воды при различных температурах (в мм рт.ст.)

T, °C	Десятые доли градуса									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	4,60	4,63	4,67	4,70	4,73	4,77	4,80	4,84	4,87	4,91
1	4,94	4,98	5,01	5,05	5,08	5,12	5,16	5,19	5,23	5,27
2	5,30	5,34	5,38	5,42	5,45	5,49	5,53	5,57	5,61	5,65
3	5,69	5,73	5,77	5,81	5,85	5,89	5,93	5,97	6,01	6,06
4	6,10	6,14	6,18	6,23	6,27	6,31	6,36	6,40	6,45	6,49
5	6,53	6,58	6,63	6,67	6,72	6,76	6,81	6,86	6,90	6,95
6	7,00	7,05	7,10	7,14	7,19	7,24	7,29	7,34	7,39	7,44
7	7,49	7,54	7,60	7,65	7,70	7,75	7,80	7,86	7,91	7,96
8	8,02	8,07	8,13	8,18	8,24	8,29	8,35	8,40	8,46	8,52
9	8,57	8,63	8,69	8,75	8,81	8,87	8,93	8,99	9,05	9,11
10	9,17	9,23	9,29	9,35	9,41	9,47	9,54	9,60	9,67	9,73
11	9,79	9,86	9,92	9,99	10,05	10,12	10,19	10,26	10,32	10,39
12	10,46	10,53	10,60	10,67	10,73	10,80	10,88	10,95	11,02	11,09
13	11,16	11,24	11,31	11,38	11,46	11,53	11,61	11,68	11,76	11,83
14	11,91	11,99	12,06	12,14	12,22	12,30	12,38	12,46	12,54	12,62
15	12,70	12,78	12,86	12,95	13,03	13,11	13,20	13,28	13,37	13,45
16	13,54	13,62	13,71	13,80	13,89	13,97	14,06	14,15	14,24	14,33
17	14,42	14,51	14,61	14,70	14,79	14,88	14,98	15,07	15,17	15,26
18	15,36	15,45	15,55	15,65	15,75	15,85	15,95	16,05	16,15	16,25
19	16,35	16,45	16,55	16,66	16,76	16,86	16,97	17,07	17,18	17,29
20	17,39	17,50	17,61	17,72	17,83	17,94	18,05	18,16	18,27	18,38
21	18,50	18,61	18,72	18,84	18,95	19,07	19,19	19,31	19,42	19,54
22	19,66	19,78	19,90	20,02	20,14	20,27	20,39	20,51	20,64	20,76
23	20,89	21,02	21,14	21,27	21,40	21,53	21,66	21,79	21,92	22,05
24	22,18	22,32	22,45	22,59	22,72	22,86	23,00	23,14	23,27	23,41
25	23,55	23,69	23,83	23,98	24,12	24,26	24,41	24,55	24,70	24,84
26	24,99	25,14	25,29	25,44	25,59	25,74	25,89	26,05	26,20	26,35
27	26,51	26,66	26,82	26,98	27,14	27,29	27,46	27,62	27,78	27,94
28	28,10	28,27	28,43	28,60	28,77	28,93	29,10	29,27	29,44	29,61
29	29,78	29,96	30,13	30,31	30,48	30,65	30,83	31,01	31,19	31,37
30	31,55	31,73	31,91	32,09	32,28	32,46	32,65	32,84	33,03	33,22
31	33,41	33,60	33,79	33,98	34,17	34,37	34,56	34,76	34,96	35,16
32	35,36	35,56	35,76	35,96	36,17	36,37	36,58	36,78	36,99	37,20
33	37,41	37,62	37,83	38,05	38,26	38,47	38,69	38,91	39,12	39,34
34	39,57	39,79	40,01	40,23	40,46	40,68	40,91	41,14	41,36	41,60

Приложение 3

Растворимость кислот, солей и оснований в воде

	H ⁺	NH ₄ ⁺	K ⁺	Na ⁺	Ag ⁺	Ba ²⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Mn ²⁺	Zn ²⁺	Ni ²⁺	Sn ²⁺	Pb ²⁺	Cu ²⁺	Hg ²⁺	Hg ⁺	Fe ²⁺	Fe ³⁺	Al ³⁺	Cr ³⁺
OH ⁻		–	P	P	–	P	M	M	H	H	H	H	H	H	–	–	H	H	H	H
NO ₃ ⁻	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	–	P	P	P	–	P	P	P	P
F ⁻	P	P	P	P	P	M	H	M	M	M	P	P	M	P	–	M	M	H	M	M
Cl ⁻	P	P	P	P	H	P	P	P	P	P	P	P	M	P	P	H	P	P	P	P
Br ⁻	P	P	P	P	H	P	P	P	P	P	P	P	M	P	M	H	P	P	P	P
I ⁻	P	P	P	P	H	P	P	P	P	P	P	P	H	–	H	H	P	–	P	P
S ²⁻	P	P	P	P	H	–	–	–	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	–	–
SO ₃ ²⁻	P	P	P	P	M	M	M	M	H	M	H	–	H	–	–	–	M	–	–	–
SO ₄ ²⁻	P	P	P	P	M	H	M	P	P	P	P	P	H	P	P	M	P	P	P	P
CO ₃ ²⁻	P	P	P	P	H	H	H	H	H	H	–	–	H	–	–	H	H	–	–	–
SiO ₃ ²⁻	H	–	P	P	H	H	H	H	H	H	H	–	H	–	–	–	H	–	–	–
PO ₄ ³⁻	P	–	P	P	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
CH ₃ COO ⁻	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	P	M	P	P	P	P

«Р» – растворимое (больше 10 г на 1000 г воды)

«Н» – нерастворимое (меньше 0,01 г на 1000 г воды)

«М» – малорастворимое (от 10 до 0,01 г на 1000 г воды)

«–» – вещество разлагается водой или не существует

Сведения об авторах

Каверина Наталия Викторовна – кандидат географических наук; заместитель начальника отдела аналитических исследований Филиала «ЦЛАТИ по Воронежской области» ФГБУ «ЦЛАТИ по ЦФО» (филиал ЦЛАТИ по Воронежской области), доцент кафедры геоэкологии и мониторинга окружающей среды Воронежского государственного университета.

Прожорина Татьяна Ивановна – кандидат химических наук, доцент кафедры геоэкологии и мониторинга окружающей среды Воронежского государственного университета.

Иванова Екатерина Юрьевна – кандидат биологических наук, доцент кафедры геоэкологии и мониторинга окружающей среды Воронежского государственного университета.

Клевцова Марина Александровна – кандидат географических наук, доцент кафедры геоэкологии и мониторинга окружающей среды Воронежского государственного университета.

Куролап Семен Александрович – доктор географических наук, профессор; декан факультета географии, геоэкологии и туризма; заведующий кафедрой геоэкологии и мониторинга окружающей среды Воронежского государственного университета.

Клепиков Олег Владимирович – доктор биологических наук, профессор; заведующий отделением информационных технологий организационно-методического отдела ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Воронежской области»; профессор кафедры промышленной экологии, оборудования химических и нефтехимических производств Воронежского государственного университета инженерных технологий; профессор кафедры геоэкологии и мониторинга окружающей среды Воронежского государственного университета.

Муравьёв Александр Григорьевич – кандидат химических наук, руководитель учебного центра, директор производственно-лабораторного комплекса ЗАО «Крисмас+».

Никольская Анна Николаевна – старший преподаватель кафедры геоэкологии и мониторинга окружающей среды Воронежского государственного университета.

Синегубова Валентина Владимировна – заведующий эколого-аналитической лабораторией факультета географии, геоэкологии и туризма Воронежского государственного университета.

Учебное издание

**Наталья Викторовна Каверина
Татьяна Ивановна Прожорина
Екатерина Юрьевна Иванова
Марина Александровна Клевцова
Семен Александрович Куролап
Олег Владимирович Клепиков
Александр Григорьевич Муравьев
Анна Николаевна Никольская
Валентина Владимировна Синегубова**

Методы экологических исследований

(учебное пособие для вузов)

Издается в авторской редакции

Подписано в печать 15.05.2019 г.
Формат 70х100/16. Усл. печ. л. 22,25.
Бумага офсетная. Тираж 500 экз.
Заказ № 0676.

ООО Издательство «Научная книга»
394077, Россия, г. Воронеж, ул. 60-Армии, 25-120
<http://www.sbook.ru>

Отпечатано с готового оригинал-макета
В ООО «Цифровая типография»
394036, г. Воронеж, ул. Ф. Энгельса, д. 52
Тел. (473) 261-03-61, e-mail: zakaz@print36.ru