

Данный файл представлен исключительно в ознакомительных целях.

Уважаемый читатель!

Если вы скопируете данный файл,  
Вы должны незамедлительно удалить его сразу после ознакомления с содержанием.  
Копируя и сохраняя его Вы принимаете на себя всю ответственность, согласно действующему международному законодательству .  
Все авторские права на данный файл сохраняются за правообладателем.  
Любое коммерческое и иное использование кроме предварительного ознакомления запрещено.

Публикация данного документа не преследует никакой коммерческой выгоды. Но такие документы способствуют быстрейшему профессиональному и духовному росту читателей и являются рекламой бумажных изданий таких документов.

Министерство образования Российской Федерации  
Южно–Уральский государственный университет  
Кафедра “Общая и инженерная экология”

502(07)  
Х694

Н.И. Ходоровская, О.Н. Кандерова

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И ГИДРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ  
ИССЛЕДОВАНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО СОСТОЯНИЯ ВОДОЕМОВ  
Учебное пособие

Челябинск  
Издательство ЮУрГУ  
2002

УДК 502(07) + И481.266.3.27 + 574(076.5)

Н.И. Ходоровская, О.Н. Кандерова Физико-химические и гидробиологические методы исследования экологического состояния водоемов: Учебное пособие. – Челябинск. Изд. ЮУрГУ, 2002. – 70 с.

В учебном пособии рассматриваются методы, которые используются при исследованиях экологического состояния природных водоемов. Учебное пособие содержит методики, теоретические и справочные материалы, практические примеры и может быть рекомендовано при выполнении экологических исследовательских работ студентов и учащихся старших классов школ, а также использоваться для самостоятельной работы студентов и школьников при изучении экологического цикла.

Табл. 16, список лит. – 13 назв., прил. – 9.

Одобрено учебно-методической комиссией архитектурно-строительного факультета.

Рецензенты: Е.Д. Сереженко, Н.Л. Бунькова.

## **ПРЕДИСЛОВИЕ**

Предлагаемые в данном учебном пособии методы исследования природных водоемов позволяют получить широкий спектр показателей, характеризующих экологическое состояние водоема. Методики для определения физико-химических показателей являются наиболее распространенными и многократно опробованными в практике анализа качества воды.

Методики подобраны таким образом, что определение большинства показателей возможно как в лаборатории, так и в полевых условиях. Это неоднократно проверено на практике при обучении студентов и исследовательской работе старшеклассников.

В пособии предлагается ряд методов исследования основанных на индикаторных свойствах гидробионтов. Данные методики не требуют сложного оборудования, информативны и вызывают неизменный интерес учащихся. При этом объектами исследования могут быть любые природные и искусственные водоемы находящиеся как вне так и в черте города.

## ВВЕДЕНИЕ

В природных условиях наиболее полно оценить экологическое состояние водоема возможно только при изучении комплекса параметров основных элементов водной биоты и среды ее обитания. Задачей проводимых исследований является получение и накопление информации о видовом разнообразии определенных групп гидробионтов, а также анализ комплекса физико-химических, химико-биологических и микробиологических показателей воды водоема. Проведение таких исследований предполагает проработку следующих вопросов по данной проблеме:

общий сапробиологический анализ по индикаторным организмам с учетом дополняющих химико-биологических показателей водной среды и оценкой продукционно-деструкционных процессов в водоеме;

выявление источников попадания биогенных элементов и определение наиболее значимых факторов, влияющих на повышение уровня трофности водоема

анализ физико-химических показателей водной среды, взаимосвязи совокупности физико-химических и гидробиологических процессов протекающих в водоеме, изучения динамики внутриводоемных процессов

Классической системой оценки экологического состояния водоема является *система сапробности*, основанная на учете и анализе индикаторных организмов, присутствующих в водном биоценозе.

Данный метод позволяет оценивать сапробность водного биоценоза по фитопланктону, зоопланктону или бентосному сообществам по отдельности или в их совокупности. Кроме того, это дает возможность сравнения результатов исследования водоемов различных районов.

Дополнительными характеристиками, уточняющими классификацию и облегчающими сапробиологический анализ, являются химико-биологические показатели качества водной среды. Это – концентрации растворенного кислорода в воде, наличие сероводорода, азота аммонийного, содержание органических веществ, то есть значения БПК и окисляемости воды, а также количественная характеристика сапрофитной микрофлоры и кишечной палочки в воде.

Изменение окислительно-восстановительных условий, газового режима водоема, и как следствие повышение продукции органического вещества, приводит к увеличению в воде концентрации свободной углекислоты, аммиака, сероводорода, восстановительных форм железа, марганца.

Для оценки степени эвтрофикации используются биологические и физические показатели, различные для поверхностных и глубинных вод. Для эпилимниона – это видовой состав, численность бактерий, степень развития макрофитов, содержание  $P - PO_4^{3-}$  и  $N - NH_3 - NO_3^-$  в начале весенней циркуляции. Для гипolimниона это, прежде всего, содержание кислорода в воде к концу летней стагнации, БПК, выделение  $CO_2$ , накопление  $P - PO_4^{3-}$ , растворенных соединений азота, образование метана и сероводорода в донных отложениях.

Для характеристики процесса «цветения» используются показатели численности, биомассы фитопланктона. Большое значение имеет анализ видового состава микроводорослей, выявление доминирующих видов в период их массового развития. Наиболее часто цветение вызывается диатомовыми, зелеными и синезелеными водорослями или цианобактериями. Их способность к быстрому размножению связана с высокой приспособленностью к широкому диапазону внешних условий.

Определение видового состава индикаторных организмов изучаемого водоема производится путем лабораторного микроскопирования проб из различных зон водоема. Идентификацию выявленных микроорганизмов проводят по специальным определителям, в которых указывается индикаторная принадлежность данного организма.

# **1. ОБЩИЕ ПРАВИЛА РАБОТЫ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ ГИДРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**

## **1.1. Правила отбора проб воды**

Одно из основных условий при взятии проб чистота бутылки и пробки. Пробы воды на полный анализ рекомендуется отбирать в полиэтиленовую или стеклянную посуду с пробками из этого же материала. Можно пользоваться корковыми или резиновыми пробками. Корковые пробки кипятят в дистиллированной воде, резиновые в 1% растворе углекислого натрия, затем промывают водой, 1% раствором соляной кислоты и ополаскивают несколько раз дистиллированной водой. Бутылки перед заполнением и пробки перед закупоркой ополаскивают отбираемой водой не менее трех раз.

Совершенно недопустимо пользоваться для закупорки пробы сосками или резиновыми пробками без предохранительных мер. Гораздо приемлемее любая пробка, обернутая двумя–тремя слоями фольги или бумажной кальки. Фольгу предварительно обезжиривают кипячением в 1% растворе углекислого натрия.

Для взятия глубинных проб употребляются специальные приборы – батометры. Вода в них при заполнении не перемешивается с воздухом.

При работе на водохранилищах, озерах, глубоководных прудах отбор для изучения фитопланктона проводят по специально разработанной гидрологической сетке. На каждой станции отбирают батометром серию проб с пропуском по глубине в 1 м до глубины утроенной прозрачности, измеренной по белому диску. При прозрачности 3 м пробы отбирают до глубины 10 м, при прозрачности 5 м – до 15 м и т.д. Все отобранные на станции воды сливают в один сосуд (чистое эмалированное ведро), тщательно перемешивают и в зависимости от степени развития фитопланктона заполняют пол-литровые или литровые бутылки и консервируют. На мелководных водоемах производят тотальный отбор проб от поверхности до дна. Поскольку в реках вертикальное распределение фитопланктона относительно равномерное, отбор проб в них обычно производят с горизонта 0,2–1 м батометром или простым зачерпыванием определенного объема воды (в случае бедных фитопланктоном вод – 1 л, богатых – 0,5 л и менее).

## **1.2. Консервирование и хранение проб**

Консервирование необходимо особенно в тех случаях, когда определяемый компонент подвергается изменениям и когда соответствующее определение нельзя произвести сразу же на месте отбора пробы или в тот же день в лаборатории.

В не консервированной пробе обычно протекают различные биохимические процессы, вызванные деятельностью микроорганизмов или планктона.

Для определения  $\text{CO}_2$ ,  $\text{O}_2$ , pH пробы не хранят. Определение производится на месте отбора проб.

Пробы на мутность воды, на фосфаты, нитраты, нитриты, соли аммония, железо делают сразу же или доливают 2–4 мл хлороформа на 1 л и производят определение в течение 1–2 суток.

В практике гидробиологических исследований наиболее распространенными методами консервирования фитопланктона являются седиментация и фильтрация через мелкопористые мембранные фильтры.

Сущность седиментационного метода заключается в том, что пробой воды, предназначенной для сгущения, заполняют пол-литровые бутылки или бутылки объемом в 1 л (в зависимости от степени развития фитопланктона) и консервируют приведенным ниже фиксатором. Через 3–4 дня после отстаивания в темноте воду над осевшими водорослями можно осторожно отсосать сифоном, оставив приблизительно 100 см<sup>3</sup> пробы. За 2–3 дня до количественной обработки пробы разливают по мерным цилиндрам и после отстаивания в темноте их объем доводят до 5–10 см<sup>3</sup>. Затем они переносятся без потерь в склянки из-под пенициллина и дополнительно консервируются одной–двумя каплями 40% формалина.

Консервировать пробы фитопланктона рекомендуется методом мембранной фильтрации.

Фильтрация воды осуществляется под вакуумом в специальной воронке, укрепленной на колбе Бунзена, которая соединяется с насосом Камовского.

Отечественная промышленность выпускает мембранные фильтры шести номеров, из которых для сгущения фитопланктона пригодны два: № 5 и 6.

Предназначенная для сгущения проба объемом 0,5 или 1,0 л не менее чем за 30 минут до фильтрации консервируется 5–10 каплями формалина или, что лучше, раствором Люголя или следующим фиксатором, состоящим из двух растворов, до слабо-желтого цвета:

Таблица 1

Раствор 1		Раствор 2	
KI	10 г	Хромовая кислота 1%	5 см <sup>3</sup>
H <sub>2</sub> O	50 см <sup>3</sup>	Ледяная уксусная кислота	10 см <sup>3</sup>
I	5 г	Формалин 40%	80 см <sup>3</sup>

Оба раствора сливаются и хранятся в темной склянке. Предварительная консервация объектов ведет к их меньшей деформации при фильтрации.

Наиболее распространенным консервантом является формалин, но действие его на клетку очень «жесткое», что приводит или к ее деформации, или, что нередко, к полному разрушению «голых» форм. Предполагаемый выше фиксатор не растворяет слизистой оболочки водорослей, сохраняет и оттеняет жгутики и периноиды и незначительно деформирует нежные формы. Для консервирования указанным фиксатором к пробе прибавляют несколько капель его до цвета темного чая.



### 1.3. Эtiquетирование проб

Каждая проба снабжается этикеткой, на которой указывают дату отбора пробы, место работы, номер станции, орудие лова. Этикетку, как показал опыт работы, лучше всего сделать из медицинского пластыря и запись вести мягким черным грифелем или шариковой ручкой.

### 1.4. Микроскопические исследования микроорганизмов

С помощью современного биологического микроскопа можно получить увеличение в 2000...25 000 раз и легко установить ряд морфологических особенностей объекта и идентифицировать микроорганизмы.

Наименьшее расстояние, при котором две соседние точки видны под микроскопом раздельно, называют его разрешающей способностью. Чем больше разрешающая способность, тем большее увеличение можно получить под микроскопом.

Увеличение разрешающей способности достигается двумя путями:

- 1) использованием объектов с большой численной апертурой, которая выгравирована на каждом объективе. Наибольшую численную апертуру имеют иммерсионные объективы, с помощью которых наиболее часто приводят исследования морфологии бактерий;
- 2) уменьшением длины волны света, которым освещается аппарат. С этой целью исследования проводят в ультрафиолетовом свете, длина волны которой меньше, чем в видимом свете. Для этого имеются специальные УФ-микроскопы. Наименьшие частицы, которые можно хорошо рассмотреть под микроскопом, должны по своим размерам быть больше  $1/3$  длины волны света. Это означает, что под обычным световым микроскопом можно рассмотреть организмы с размерами не менее  $0,2...0,3$  мкм.

Наиболее важной частью микроскопа, определяющей его оптическую мощность, являются объективы. Объективы подразделяются на сухие и иммерсионные (маслянопогружные). Сухие объективы ( $8\times$ ,  $40\times$ ) применяют при небольших увеличениях (400–600 раз). Между объективом и препаратом находится слой воздуха. В силу различных показателей преломления света, препарата и слоя воздуха часть световых лучей отклоняется и не попадает в глаз наблюдателя.

При изучении микроорганизмов почти постоянно пользуются иммерсионным объективом ( $90\times$ ), дающим увеличение в 900–1350 раз. Такой объектив погружают в каплю кедрового масла, нанесенную на препарат. Показатель преломления кедрового масла близок к показателю преломления стекла и между стеклом и линзой объектива устанавливается однородная среда. Благодаря этому все лучи, не преломляясь и не меняя своего направления, попадают в объектив и обеспечивают хорошую видимость объекта.

### **1.5. Правила и приемы пользования микроскопом**

При хранении микроскоп, особенно его оптическая система, может покрываться пылью и загрязняться в процессе работы. Поэтому микроскоп следует протирать после работы, хранить в деревянном футляре или использовать полиэтиленовый чехол по окончании работы. Загрязнение оптической системы вызывает нечеткость изображения. Особенно следует следить за иммерсионным объективом. После работы мягкой тканью снимать с линзы объектива и конденсора остатки иммерсионного масла. Остатки масла накапливают пыль и приводят к порче оптики. Высохшее масло удаляют тканью, смоченной бензином или бензолом.

Подготовив препарат, поставьте микроскоп на стол и найдите наилучшее освещение. Затем поместите на предметный столик фиксированный препарат и закрепите предметное стекло зажимами. Фокусируя микроскоп, объектив опускают на объект, а затем объектив медленно поднимают макровинтом, наблюдая в окуляр появление изображения. После этого делают точную фокусировку микровинтом, вращая его не более чем на пол-оборота.

По окончании работы поднимите тубус микроскопа, уберите препарат, протрите предметный столик ваткой смоченной в спирте, осторожно удалите масло с иммерсионного объектива.

## 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ВОДЫ

**Физическими показателями качества воды являются:**

- температура, °С;
- вкус и запах (баллы по 5-балльной системе);
- цвет (окраска) и цветность (градусы Pt – Со шкалы цветности);
- мутность (мг/л), если содержание взвешенных веществ меньше 2 мг/л или прозрачность (см. вод. ст.), если содержание взвешенных веществ больше 2 мг/л, содержание взвешенных веществ (мг/л) – при более высокой концентрации взвесей.

### 2.1. Определение температуры

Температура природных вод зависит от их происхождения. Воды подземных источников отличаются постоянством температуры, причем с увеличением глубины залегания вод сезонные колебания температуры уменьшаются. Температура вод открытых водоемов изменяется в зависимости от времени года. Кроме сезонных изменений, температура воды в отдельных местах открытых водоемов может изменяться вследствие протекания процессов гниения и поступления в водоемы подземных вод.

Оптимальная температура воды для питьевых целей 7...11 °С. Такая вода наиболее приятна на вкус.

#### *Реактивы и оборудование:*

- ртутный термометр со стоградусной шкалой с ценой деления до 0,1 °С;
- сосуд для отбора пробы емкостью 1 л.

#### *Проведение анализа*

Определение температуры производится сразу после отбора пробы или непосредственно в водоеме.

Для измерения используют ртутный термометр со стоградусной шкалой с ценой деления до 0,1 °С.

Для определения температуры на месте взятия пробы в количестве 1 л наливают в сосуд, температура которого доведена до температуры испытуемой воды. Нижнюю часть термометра погружают в воду и через пять минут производят отсчет показаний по шкале термометра с точностью 0,1 °С. Мениск ртути должен находиться на уровне глаз. Стенки сосуда, в который наливают воду, должны быть защищены от нагревания и охлаждения. Отсчет температуры должен производиться без извлечения термометра из воды с точностью до 0,1 °С.

### 2.2. Определение запаха и вкуса воды

Вкусовые свойства воды обусловлены присутствием веществ природного происхождения или веществ, которые попадают в воду в результате загрязнения ее стоками. Подземные воды, содержащие только неорганические растворенные

вещества, имеют специфический вкус, который вызван наличием железа, марганца, магния, натрия, калия, хлоридов и карбонатов.

Запах воды вызывают летучие пахнущие вещества, попадающие в нее естественным путем или со сточными водами. В природных водах, содержащих исключительно неорганические вещества, запах может давать только сероводород, присутствующий в некоторых незагрязненных подземных водах. На запах поверхностных вод влияет присутствие в них органических веществ. Загрязнение сточными водами обнаруживается не только появлением их запаха, но и запахом продуктов разложения их компонентов (сероводород, индол, скатол и т.д.). Некоторые виды организмов вызывают специфические запахи, напоминающие, например, запах огурцов (*Synura*), пеларгонии (*Asterionella*), фиалок (*Mallomjnas*), рыбы (*Uroglenopsis*, *Dinobryon*), свинарника (*Anabaena*) и т.п. Равным образом характерный запах воде придают некоторые плесени и актиномицеты.

Запах сточных вод населенных мест, представляющих собой смесь запаха фекалий с запахами разложения жиров, белков, мыла и т. д., является довольно характерным. Он зависит от разложения хозяйственно-бытовых стоков и от того, какие в воде преобладают процессы – окислительные или восстановительные. Сточные воды от термической переработки угля имеют запах фенолов, смолы, сероводорода; сточные воды химической промышленности имеют характерные запахи, зависящие от вида производства, например запах органических соединений: сероуглерода, сложных и простых эфиров, спиртов, органических кислот, азотсодержащих соединений, меркаптанов, ацетилен и т.д.

Запах и вкус природных и сточных вод зависят от температуры, содержания газов, насыщающих воду, химического состава неорганических примесей, содержания органических веществ. По происхождению запахи делятся на 2 группы:

- 1) запахи естественного происхождения (связаны с наличием живущих в воде организмов, гниющих растительных и животных остатков и т.д.);
- 2) запахи искусственного происхождения (обусловлены примесями промышленных сточных вод, реагентами процессов водоподготовки и т.д.).

Характер и интенсивность запаха определяют органолептически. Вкус и привкус воды также определяют органолептически при отсутствии подозрений на ее загрязненность (табл.2.1, 2.2).

Согласно СанПиН № 4630-88 и СанПиН 2.1.4.559-96 запах и вкус очищенной воды, предназначенной для питьевых и хозяйственных целей, при температуре 20 °С не должны превышать двух баллов; запах и вкус воды для промышленно-технических целей не имеют значения и свидетельствуют лишь о ее загрязнении.

### ***Реактивы и оборудование:***

- колба емкостью 150...250 мл;
- часовое стекло;
- плитка электрическая;
- термометр со стоградусной шкалой и ценой деления 0,1 °С.

## Проведение анализа

Широкогорлую колбу вместимостью 150...250 мл наполняют на 2/3 объема исследуемой водой, накрывают часовым стеклом и содержимое перемешивают вращательными движениями. Затем открывают колбу и оценивают характер запаха.

Запахи первой группы определяют по классификации, приведенной в табл. 2.1. Запахи второй группы классифицируют по наличию соответствующих веществ: фенольный, хлорфенольный (аптечный), камфорный, бензинный, хлорный (запах свободного хлора), запах нефти и нефтепродуктов.

Интенсивность запаха определяют по пятибалльной шкале (от 0 до 5), (табл. 2.2) вначале при температуре 15...20 °С, а затем при нагревании воды до температуры 60 °С. Исследуемую воду нагревают в колбе, закрытой часовым стеклом. Определение характера вкуса. Различают четыре вида вкуса: соленый, горький, сладкий, кислый. Остальные виды вкусовых ощущений называют привкусами. Интенсивность вкуса и привкуса, как и запаха, устанавливают по пятибалльной шкале.

Таблица 2.1

### Классификация запахов первой группы

Обозначение запаха	Характер запаха	Примерный род запаха
А	Ароматический	Огуречный, цветочный
Б	Болотный	Илистый, тинистый
Г	Гнилостный	Фекальный, сточный
Д	Древесный	Запах мокрой щепы, древесной коры
З	Землистый	Прелый, свежеспаханной земли, глинистый
П	Плесневый	Затхлый, застойный
Р	Рыбий	Рыбьего жира, рыбы
С	Сероводородный	Тухлых яиц
Т	Травянистый	Скошенной травы, сена
Н	Неопределенный	Запахи естественного происхождения, не подходящие под предыдущие определения

Таблица 2.2

### Оценка интенсивности запаха

Балл	Интенсивность запаха
0	Запаха нет
1	Очень слабый (обнаруживается только опытным наблюдателем)
2	Слабый (ощущается потребителем, если обратить его внимание)
3	Заметный (легко замечается)
4	Отчетливый (вода неприятна для питья)
5	Очень сильный (вода непригодна для питья)

Согласно СанПиН 2.1.4.559-96 запах и вкус очищенной воды, предназначенной для питьевых и хозяйственных целей, при температуре 20 °С не должны

превышать 2 баллов; запах и вкус воды для промышленно-технических целей не имеют значения и свидетельствуют лишь о ее загрязнении.

### **2.3. Определение характера и интенсивности окраски**

#### **(Определение цветности)**

Тонкие слои чистой воды бесцветны. Толстые – имеют голубоватый оттенок. Другие оттенки свидетельствуют о наличии в воде различных растворенных и взвешенных примесей. Окрашивание воды (цвет) чаще всего обусловлено:

- наличием гуминовых веществ, окрашивающих воду в различные оттенки желтого и бурого цветов;
- присутствием коллоидных соединений железа, которые придают воде оттенки от желтовато-бурого до зеленого (в зависимости от степени окисления);
- присутствием в воде взвешенных частиц (например, глины);
- присутствием окрашенных отходов производства;
- массовым развитием водорослей при цветении водоемов, вследствие чего вода приобретает окраску от желто-бурой (диатомовые водоросли) до темно-зеленой (сине-зеленые и зеленые водоросли);

Цветность воды (интенсивность окрашивания) определяется в цилиндрах для колориметрирования или фотоколориметрическим методом путем сравнения с растворами, имитирующими природную цветность воды.

Шкала цветности приготавливается в колбах из бесцветного стекла плотно закрывается пергаментной бумагой и запарафинивается. Шкала хранится в темноте. Через 2–3 месяца требуется обновление шкалы (Приложение 1).

#### ***Реактивы и оборудование:***

- исследуемая вода для анализа;
- двуххромовокислый калий, сернокислый кобальт, дистиллированная вода и серная кислота (х.ч.,  $\rho = 1,84$ ), для приготовления шкалы цветности или готовая шкала цветности;
- мерные колбы емкостью 100 мл и 1000 мл, пипетка емкостью 1 мл для приготовления шкалы цветности;
- цилиндры для колориметрирования и штатив или фотоэлектроколориметр с комплектом кювет (диаметром 10 см) для определения цветности;
- весы аналитические.

#### ***Проведение анализа***

Мутная вода перед определением должна быть отфильтрована.

Для определения цветности в цилиндрах для колориметрирования используют два цилиндра с делениями от 1 до 100 мл и кранами в нижней части цилиндров.

В один из цилиндров до верхней метки наливают исследуемую воду, в другой – стандартный раствор с известной цветностью. Ставят цилиндры на белую пластинку и отливают стандартный раствор до тех пор, пока окраски растворов в обоих цилиндрах, при рассматривании сверху, не сравниваются.

Цветность исследуемой воды  $C_{\text{исс}}$  рассчитывают по формуле

$$C_{\text{исс}} = \frac{C_{\text{ст}} \cdot h_{\text{ст}}}{h_{\text{исс}}}, \quad (1)$$

где  $C_{\text{ст}}$  – цветность стандартного раствора, град;  $h_{\text{ст}}$ ,  $h_{\text{исс}}$  – соответственно высоты столбов стандартного раствора и исследуемой воды, см. Цветность выражается в градусах. Цветность от 1° до 50° выражается с точностью до 2°; от 51° до 100° – с точностью до 5°; от 101° до 250° – с точностью до 10°; от 251° до 500° – с точностью до 20°. Если исследуемая вода имела цветность выше 80°, ее разбавляют дистиллированной водой. При вычислении результата определения найденную цветность умножают на кратность разбавления.

Для определения цветности фотоколориметрическим методом необходимо предварительно измерить оптические плотности стандартных растворов и построить градуировочный график в координатах: "цветность–оптическая плотность". Затем определяют оптическую плотность исследуемого раствора относительно стандартного и рассчитывают цветность в соответствии с уравнением градуировочной зависимости.

Цветность очищенной водопроводной воды по ГОСТ 2874-82 допускается не более 20 град.

## **2.4. Определение содержания прозрачности, мутности и взвешенных веществ**

### **2.4.1 Прозрачность**

Прозрачность воды зависит от количества и степени дисперсности находящихся в воде взвешенных веществ (глины, песка, ила, органических взвесей). Прозрачность выражается в сантиметрах водяного столба, через который видны линии толщиной в 1 мм (определение прозрачности по кресту) или шрифт № 1 (по Снеллену).

#### ***Реактивы и оборудование:***

- исследуемая вода для анализа;
- цилиндр (высота градуированной части более 30 см) с припаянным внизу краном и шрифт № 1 Снеллена для определения прозрачности;
- весы аналитические, стеклянный фильтр № 4, фотоэлектроколориметр и шкала мутности для определения мутности;
- весы аналитические, шкаф сушильный, тигель, эксикатор, колбы емкостью 250...300 мл, фильтр бумажный (белая лента) или стеклянный (№2);
- дистиллированная вода для определения взвешенных веществ.

#### ***Проведение анализа***

Определение прозрачности проводят в специально градуированном цилиндре (высота градуированной части более 30 см) с припаянным внизу краном и плоским, хорошо отшлифованным дном. Воду наливают в цилиндр, подкладывают шрифт № 1 (или крест) на расстоянии 4 см от дна и просматривают

его сверху через слой воды, отливая или добавляя ее и отмечая высоту столба, через который чтение шрифта еще возможно. Высота воды в цилиндре, отчитанная в см, выражает степень прозрачности воды.

#### **2.4.2. Мутность**

Мутность воды обусловлена присутствием в пробе нерастворенных и коллоидных веществ неорганического и органического происхождения. Причиной мутности поверхностных вод являются прежде всего илы, кремневая кислота, гидроксиды железа и алюминия, органические коллоиды, микроорганизмы и планктон. В грунтовых водах мутность вызывается преимущественно присутствием нерастворимых минеральных веществ, а при проникновении в грунт сточных вод – также и присутствием органических веществ.

Мутность воды надо определять в день отбора пробы или хранить пробу в темноте и анализировать ее не позже чем через 1 сутки после отбора. Если надо ослабить биохимические процессы в пробе, прибавляют к ней 2 мл хлороформа 1 л пробы.

Общую мутность воды, являющуюся результатом поступления в водоем как органических, так и неорганических веществ, можно измерить с помощью диска Секки.

При содержании взвешенных веществ в воде менее 2 мг/л (таблица и график пересчета прозрачности в мутность приведены в Приложении 2) определяют мутность воды фотометрическим методом.

При более высоком содержании взвешенных веществ определение проводят весовым способом.

Мутность анализируемой воды можно определять визуальным сравнением.

##### **2.4.2.1. Визуальное определение**

**Мешающие влияния.** Определению мешает окраска воды, если она интенсивная. При визуальном определении мутности это влияние устраняется тем, что стандартную суспензию прибавляют не к дистиллированной воде, а к центрифугированной прозрачной анализируемой пробе. Если мутность пробы центрифугированием не устраняется, то пользуются другой прозрачной жидкостью, имеющей ту же окраску.

#### ***Реактивы и оборудование***

- двуокись кремния, стандартная концентрированная суспензия (Приложение 3);
- мерные цилиндры с внутренним диаметром 2,5 см, высотой приблизительно 50 см с ценой деления 1 см. Дно цилиндра должно быть из оптически чистого стекла. Высота столба жидкости, равна 10, 20, 30, и 40 см, должна приблизительно соответствовать объемам 50, 100, 150 и 200 мл.



### ***Проведение анализа***

В один из цилиндров вводят хорошо взболтанную анализируемую пробу, высота слоя которой должна быть 10, 20, 30 или 40 см в зависимости от мутности. Во второй цилиндр наливают дистиллированную воду примерно до половины его объема и прибавляют из бюретки разбавленную стандартную суспензию  $\text{SiO}_2$ . (При анализе проб, мутность которых невелика, применяют стандартную суспензию, содержащую 0,1 мг  $\text{SiO}_2$  в 1 мл; при анализе проб, мутность которых превышает 50 мг  $\text{SiO}_2$  в 1 л, применяют стандартную суспензию, содержащую 1,0 мг  $\text{SiO}_2$  в 1 мл.) Стандартную суспензию прибавляют до тех пор, пока жидкости в обоих цилиндрах не станут одинаково мутными при просмотре их сверху вниз. После этого доводят объемы жидкости в обоих цилиндрах дистиллированной водой до 200 мл, т.е. до высоты 40 см, и в случае необходимости уравнивают их мутности добавлением стандартной суспензии  $\text{SiO}_2$  в менее мутную жидкость. Записывают объем стандартной суспензии  $\text{SiO}_2$ , введенной в цилиндр с дистиллированной водой (вычитая из него объем той же суспензии, которую вводили в цилиндр с пробой, если это пришлось делать), и объем пробы, взятой для анализа. Мутность воды ( $x$ ) в мг  $\text{SiO}_2$  /л вычисляют по формуле:

$$x = \frac{cV_2 \cdot 1000}{V_1}, \quad (2)$$

где  $c$  – концентрация стандартной суспензии, мг/мл;  $V_2$  – объем пробы, мл;  $V_1$  – объем стандартной суспензии, мл.

#### **2.4.2.2. Фотометрическое определение**

##### ***Реактивы и оборудование***

- стандартная суспензия;
- кюветы, толщиной поглощающего слоя 10 см;
- светофильтр ( $\lambda=530$  нм);
- стеклянный фильтр №4.

### ***Проведение анализа***

Определение мутности фотометрическим способом (ГОСТ 3351–74) основано на сравнении проб исследуемой воды со стандартными суспензиями каолина. Предварительно измеряют оптические плотности стандартных суспензий и строят градуировочный график (шкалу мутности). Для измерения оптической плотности используют кюветы с толщиной поглощающего слоя 10 см. Измерения проводят при зеленом светофильтре ( $\lambda=530$  нм). Раствором сравнения служит исследуемая вода, из которой удалены взвешенные вещества (центрифугированием или фильтрованием через стеклянный фильтр №4). Затем измеряют оптическую плотность и по градуировочному графику оценивают ее мутность.

#### **2.4.2.3. Определение мутности воды диском Секки**

##### ***Оборудование***

- диск Секки

### **Проведение анализа**

Стандартный по размеру (200 мл в диаметре) диск, с черно-белыми секторами, опускается в воду до глубины исчезновения его видимости. Эта глубина регистрируется, и диск поднимается вверх; глубина на которой диск начинает быть видимым, также регистрируется. Глубина, соответствующая видимости диска Секки, является средней из двух ее выше указанных значений. Она обратно пропорциональна плотности популяций водорослей в воде, так как взвешенное вещество будет рассеивать падающий свет и увеличивать его ослабление. Следовательно, глубина видимости диска Секки в воде некоторым образом связана с первичной продуктивностью воды, которая является показателем трофического состояния водоема: олиготрофные водоемы 6,0 м, мезотрофные от 3,0 до 6,0 м, эвтрофные менее 3,0 м. Качественные соотношения между показателями качества воды и глубиной видимости диска Секки приведены в табл. 2.3

Таблица 2.3

#### **Характеристика качества водной среды.**

Глубина видимости диска Секки, м	Общепринятое восприятие
0–1	Сильное загрязнение, озеро в целом нельзя использовать для рекреации.
1–2	Цветение водорослей еще заметно, качество вод неприемлемо для большинства пользователей.
2–3	Возможны заболевания вследствие ухудшения качества вод, определенные трудности с использованием вод.
3–4	Удовлетворительное качество, нет никаких ограничений на использование вод.
4–5	Прекрасное качество вод – положительный фактор, поощряющий использование озер.
5	Исключительное качество водной среды.

Хотя эти измерения дают хорошее приближение к оценке трофического состояния водоемов, результаты могут быть недействительными из-за чрезмерной окрашенности вод или ее мутности вследствие содержания неорганических частиц. Следовательно, такой индикатор, как глубина диска Секки наиболее применим к глубоким стратифицированным водным объектам.

### **2.4.3. Содержание взвешенных веществ**

#### **Реактивы и оборудование**

- бумажный или стеклянный фильтр №2;
- тигель;
- дистиллированная вода;
- эксикатор.

### ***Проведение анализа***

Суммарное содержание взвешенных веществ определяют фильтрованием через бумажный (белая лента) или стеклянный фильтр №2. Для этого 250...300 мл воды фильтруют через высушенный при температуре 105 °С (в течение 2 ч.) и взвешенный бумажный (или стеклянный) фильтр. Промывают осадок на фильтре небольшим количеством дистиллированной воды и переносят фильтр с осадком в предварительно прокаленный и взвешенный тигель. Высушивают при температуре 105 °С, охлаждают в эксикаторе и взвешивают.

Общее содержание грубодисперсных примесей определяют по формуле:

$$x = \frac{(g_1 - g_0) \cdot 1000}{V}, \quad (3)$$

где  $g_1$  – масса фильтра с осадком, мг;  $g_0$  – масса фильтра, мг;  $V$  – объем воды, взятой для исследования, мл.

### 3. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ВОДЫ

Основными химическими показателями качества воды являются:

- активная реакция воды (рН);
- свободная и общая кислотность воды;
- щелочность воды;
- жесткость воды;
- перманганатная кислотность;
- содержание растворенных газов –  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{O}_2$ ;
- биохимическое потребление кислорода (БПК);
- содержание иона аммония, нитритов, нитратов;
- содержание общего железа, ионов железа ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$ );
- содержание хлорид-ионов;
- содержание сульфат-ионов;
- содержание органических и неорганических фосфатов.

#### 3.1. Активная реакция воды (рН)

Небольшая часть молекул воды диссоциирована на водородные и гидроксильные ионы. В химически чистой воде молярные концентрации этих ионов равны и составляют при 25 °С  $10^{-7}$  моль/л. Таким образом, величина произведения обеих концентраций равна  $10^{-14}$ . Это произведение сохраняет постоянную величину и в присутствии веществ, при диссоциации которых образуются водородные и гидроксильные ионы. Поэтому вполне достаточно определить концентрацию одного из них. Практически определяют концентрацию водородных ионов.

Поскольку концентрация водородных ионов, или другими словами, активная реакция среды, может иметь самое различное значение и различаться на несколько порядков, принято выражать ее величиной рН, представляющий собой десятичный логарифм концентрации ионов водорода, взятый с обратным знаком

$$\text{pH} = -\lg [\text{H}^+] \quad (4)$$

Активную реакцию воды определяют, как правило, потенциометрическим методом (рН-метром) при помощи стеклянного электрода.

Если нельзя применить рН-метр (например, в полевых условиях), используют колориметрический метод. Колориметрический метод основан на свойстве индикаторов изменять окраску в зависимости от концентрации ионов водорода, причем, для каждого индикатора существуют определенные границы изменения его окраски [Приложение 3]. Колориметрическое определение рН можно применять для бесцветных сточных вод с использованием универсального индикатора или нитрофенольной шкалы. Приблизительную концентрацию ионов водорода можно установить по готовым индикаторным бумажкам.

#### *Реактивы и оборудование*

- потенциометр для потенциометрического определения;
- универсальный индикатор со шкалой сравнения;

- набор индикаторных бумажек для определения pH;
- стандартные пробирки емкостью 8 мл, внутренний диаметр 12,8–13,0 **мл**.

### **Проведение анализа**

**Потенциометрический метод.** В стаканчик наливают исследуемую воду и проводят измерение pH по шкале потенциометра. Перед каждым погружением в контролируемый раствор электроды необходимо тщательно промыть дистиллированной водой и удалить с них избыток воды фильтровальной бумагой. Электроды должны быть погружены в контролируемый раствор на глубину не менее 2 см.

При измерении pH растворов, температура которых отличается от комнатной ( $\approx 200$  °C), необходимо применять автоматическую температурную компенсацию, либо при каждом измерении устанавливать указатель ручного корректора на температуру контролируемого раствора. Отсчет величины pH по шкале прибора следует производить после того, как показания примут установившееся значение.

**Колориметрическое определение.** В одну из стандартных пробирок (пробирки из бесцветного стекла емкостью 8 мл, с меткой на 5мл, внутренний диаметр 12,8–13,0 мл) прибавляют из капельницы около 0,1 мл (2–3 капли) универсального индикатора (Приложение 3) затем наливают до отметки 5 мл испытуемой воды.

В другую стандартную пробирку наливают до отметки исследуемую воду без индикатора. Вставляют пробирки в компаратор и колориметрируют, рассматривая пробирки сверху. Окраска раствора в зависимости от pH меняется от ярко-розового до голубого цвета.

Если окраска испытуемого раствора окажется интенсивнее окрашена розовой краской, чем эталон, соответствующий pH - 4, то результат записывают  $\text{pH} < 4,0$ .

Если же окраска окажется совпадающей с эталоном 7,8 или синее этого эталона, определение повторяют, прибавляя к испытуемой воде вместо универсального индикатора индикатор тимоловый синий, производя сравнение окраски с эталонами планшета (планшет - индикатор тимоловый синий).

При анализе сильно загрязненных вод пользуются индикаторными бумажками.

### **3.2. Кислотность воды**

Кислотностью называется содержание в воде веществ, вступающих в реакцию с сильными щелочами (едким калием, едким натрием), т.е. с гидроксид-ионами. Расход основания выражает общую кислотность воды (p).

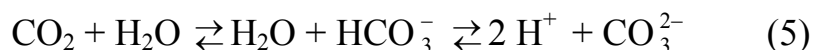
Определяют общую и свободную кислотность воды.

Общей кислотностью воды (p) называется содержание в воде веществ, вступающих в реакцию с сильными щелочами (едким натром, едким кали). К этим веществам относятся:

- 1) сильные кислоты, создающие в водных растворах  $\text{pH} < 3$  (соляная, азотная, серная и др.);

- 2) слабые кислоты, создающие в водных растворах  $pH > 3$  (уксусная, сернистая, сероводородная, угольная, гуминовые кислоты и т.д.);
- 3) катионы слабых оснований (ионы аммония, железа, алюминия, органические основания);
- 4) Объем 0,1 н раствора щелочи, израсходованный на титрование таких веществ (до  $pH\ 8,3$ ) соответствует общей кислотности воды ( $p$ ).

Кислотность природных вод в большинстве случаев зависит только от содержания свободного растворенного углекислого газа:



Часть общей кислотности, обусловленная наличием гуминовых и других слабых органических кислот, растворенных в воде, называется естественной кислотностью воды. Активная реакция ( $pH$ ) природной воды, не загрязненной промышленными стоками, обычно не ниже 4,5.

Промышленные сточные воды (стоки травильного, гальванического производства, шахтные воды) могут содержать сильные кислоты или соли сильных кислот и слабых оснований (чаще всего соли железа и алюминия), подвергающиеся гидролизу, в результате которого кислотность воды увеличивается, а  $pH$  воды при этом обычно падает значительно ниже 4,5. При сбросе таких вод в водоемы кислая реакция должна быть нейтрализована, иначе неизбежна гибель рыбы и всего живого.

Часть общей кислотности, при которой  $pH$  воды падает до 4,5 и ниже называется свободной кислотностью воды ( $m$ ).

### ***Сущность метода***

Кислотность воды определяют титрованием раствором сильного основания. Количество 0,1 н раствора сильного основания, израсходованного на титрование до достижения  $pH=4,5$ , соответствует свободной кислотности воды ( $m$ ), а  $pH=8,3$  – общей кислотности воды ( $p$ ). Если  $pH$  исследуемой воды превышает 8,3, то ее кислотность равна 0.

### ***Реактивы и оборудование***

- метиловый оранжевый;
- 0,1 н раствор едкого натра;
- раствор фенолфталеина или тимолфталеина.

### ***Проведение анализа***

Предварительно определяют наличие в воде свободного углекислого газа по метиловому оранжевому (кислая реакция) или измеряют  $pH$  ( $pH < 4,5$ ). Если установлено свободного  $CO_2$ , то проводят количественное определение свободной и общей кислотности воды.

Для определения свободной кислотности воды ( $m$ ) к 100 мл исследуемой воды добавляют 2 капли раствора метилового оранжевого и титруют 0,1 н раствором

едкого натра до появления желтой окраски (при потенциометрическом титровании – до pH 4,5).

Для определения общей кислотности воды (p) к 100 мл исследуемой воды добавляют 3 капли раствора фенолфталеина (pH=8,3) или тимолфталеина (pH=9,4)\* и титруют 0,1 н раствором едкого натра до появления розовой окраски (при потенциометрическом титровании – до pH 8,3).

Свободную (m) и общую (p) кислотность воды вычисляют по формуле:

$$x = \frac{Vx \cdot N \cdot 1000}{V}, \quad (6)$$

где  $x = m$  или  $x = p$ , соответственно;  $Vx$  – объем NaOH, пошедший на титрование при определении свободной и общей кислотности, соответственно;  $N$  – нормальность раствора NaOH;  $V$  – объем исследуемой воды, взятой на титрование, мл.

### 3.3. Щелочность воды

Определяют общую щелочность, щелочность по фенолфталеину и по метилоранжу.

Под щелочностью понимают способность некоторых компонентов, содержащихся в воде, связывать эквивалентное количество сильной кислоты. Щелочность воды выражается в мг-экв/л, необходимой для ее нейтрализации, что соответствует количеству миллилитров 1 н соляной кислоты на 1 л воды.

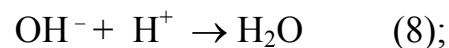
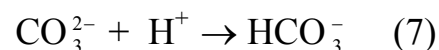
Общая щелочность природных вод обуславливается анионами слабых кислот:  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{H}_2\text{SiO}_4^-$ ,  $\text{H}_2\text{BO}_4^-$  и другими анионами, гидролизующимися с образованием гидроксид-ионов. В сероводородных водах заметное значение в щелочности воды приобретает гидросульфитный ион ( $\text{HS}^-$ ), а в нефтяных водах – ионы органических кислот. В сточных водах щелочность может быть обусловлена гидроксил-ионами сильных оснований (NaOH, KOH).

Щелочность, обусловленная присутствием сильных оснований (гидратов), называется гидратной. Щелочность, обусловленная присутствием ионов  $\text{HCO}_3^-$  и  $\text{CO}_3^{2-}$  называется бикарбонатной, или карбонатной. Таким образом, для природных вод характерна бикарбонатная щелочность.

#### Сущность метода

Раздельное определение ионов  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  и  $\text{OH}^-$  легко достигается титрованием кислотой (например, HCl) с различными индикаторами:

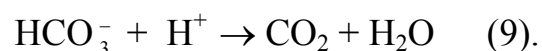
– фенолфталеином (точка эквивалентности при pH~8,3...8,4) – при определении  $\text{CO}_3^{2-}$  и  $\text{OH}^-$



---

\* Тимолфталеин используют при титровании очень слабых кислот и катионов очень слабых оснований

- и метиловым оранжевым (точка эквивалентности при  $\text{pH} \sim 4$ ) – при определении  $\text{HCO}_3^-$



Ионы  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$  и  $\text{OH}^-$  при их совместном присутствии определяются сначала титрованием вначале в присутствии фенолфталеина, затем – с метиловым оранжевым. Если щелочность по фенолфталеину равна 0, то общая щелочность обусловлена только ионами  $\text{HCO}_3^-$ . Поскольку щелочность природных вод практически соответствует концентрации гидрокарбонатных ионов  $\text{HCO}_3^-$  (если в воде отсутствуют карбонаты  $\text{CO}_3^{2-}$ ) то щелочность природных вод равна карбонатной жесткости, так как в природных водах ионы  $\text{HCO}_3^-$  связаны только с ионами кальция и магния.

**Мешающие влияния.** Определению щелочности мешает интенсивная окраска пробы. Ее устраняют разбавлением, прибавлением активированного угля или фильтрованием пробы перед анализом. Мутность воды устраняют фильтрованием. Мешающее влияние свободного хлора (обесцвечивает индикатор) удаляют прибавлением эквивалентного количества тиосульфата натрия. Высокие концентрации  $\text{CO}_2$  мешают правильному определению перехода окраски, поэтому уголекислоту предварительно вытесняют продуванием воздуха через пробу.

### **Реактивы и оборудование**

- фенолфталеин;
- 0,1 н раствор соляной кислоты.

### **Проведение анализа**

Предварительно определяют наличие в воде карбонатов или гидроксид-ионов (карбонатная и гидратная щелочность) по фенолфталеину (щелочная реакция) или измеряют  $\text{pH}$  ( $\text{pH} > 8$ ). Если раствор окрасился в розовый цвет, к 100 мл исследуемой воды добавляют 3 капли раствора фенолфталеина ( $\text{pH} = 8,4$ ) и титруют 0,1 н раствором  $\text{HCl}$  до обесцвечивания (щелочность по фенолфталеину). Затем в ту же колбу добавляют 2...3 капли раствора метилового оранжевого и титруют 0,1 н раствором  $\text{HCl}$  до перехода желтой окраски в розовую (щелочность по метиловому оранжевому).

Записывают объем, раствора соляной кислоты, израсходованного на титрование с фенолфталеином и общий объем кислоты, израсходованный на титрование. Общую щелочность  $\text{Щ}_{\text{об}}$  вычисляют по формуле:

$$\text{Щ}_{\text{об}} = \frac{V_{\text{HCl}} \cdot N_{\text{HCl}} \cdot 1000}{V_{\text{воды}}}, \quad (10)$$

где  $V_{\text{HCl}}$  – общий объем соляной кислоты, израсходованный на титрование, мл;  $N_{\text{HCl}}$  – нормальность раствора соляной кислоты;  $V_{\text{воды}}$  – объем исследуемой воды, взятой на титрование, мл.



Щелочность по фенолфталеину  $Щ_{\phi}$  определяют аналогично по формуле (10), но  $V_{HCl}$  в этом случае равен объему раствора соляной кислоты, израсходованному на титрование с фенолфталеином.

### 3.4. Жесткость воды

Определяют общую, кальциевую и магниевую жесткость.

Общая жесткость воды характеризует суммарную концентрацию ионов кальция (кальциевая жесткость) и магния (магниевая жесткость), мг-экв/л.

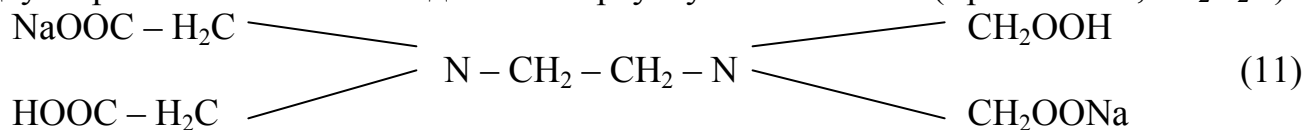
В зависимости от анионов, с которыми взаимодействуют катионы жесткости ( $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ), различают карбонатную и некарбонатную жесткость.

Карбонатная жесткость обусловлена присутствием в воде карбонатов кальция и магния. Некарбонатная – содержанием в воде, главным образом, сульфатов и хлоридов кальция и магния. Карбонатная и некарбонатная жесткость могут быть рассчитаны на основании определения общей, кальциевой жесткости и концентраций сульфатов и хлоридов.

#### 3.4.1. Общая жесткость воды

##### Сущность метода

Определение жесткости проводят комплексометрическим методом с двуназиевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты (Трилоном Б,  $Na_2H_2R$ ):



Титрование проводят в щелочной среде в присутствии индикатора (хромоген черный ЕТ-00, эриохром черный Т, кислотный хром темно-синий, точка эквивалентности при  $pH \sim 10$ ).

При титровании раствора Трилоном Б происходит разрушение комплекса металла с индикатором ( $Me^{2+} [Ind]$ ) и образование более прочного комплекса металла с Трилоном Б:



где  $Me - Ca, Mg$ ;  $R -$  радикал этилендиаминтетрауксусной кислоты.

**Условия применимости.** Метод применим при минимальной жесткости  $\sim 0.05$  мг-экв/л. При жесткости выше 20 мг-экв/л можно проводить титрование пробы 0,1 н Раствором трилона Б. При жесткости от 0,5 до 20 мг-экв/л – 0,05 н. раствором трилона Б и при жесткости менее 0,5 мг-экв/л – применяется раствор концентрации 0,01 н.

**Мешающие влияния.** Определению жесткости мешают железо, цинк, медь, олово, марганец, так как применяемые индикаторы чувствительны к присутствию данных катионов. Для устранения мешающего влияния в пробу добавляют сульфид натрия, а в случае присутствия марганца – солянокислый гидроксиламин.

### **Реактивы и оборудование**

- исследуемая проба;
- 1% раствор солянокислого гидроксиламина;
- 2–5% раствор сульфида натрия;
- буферный раствор (рН=10);
- индикатор (хромоген черный ЕТ-00, эриохром черный Т, кислотный хром темно-синий);
- трилон Б;
- 0,1 н соляная кислота.

### **Проведение анализа**

**Определение общей жесткости.** Для анализа берут пипеткой 100 мл пробы (или меньшее количество при высокой жесткости, доводя объем до 100 мл), если необходимо добавляют 2 мл раствора солянокислого гидроксиламина (1%) и 1 мл раствора сульфида натрия (2...5%), 5 мл буферного раствора (рН=10) и 0,1–0,2 г индикатора. После перемешивания пробу титруют трилоном Б до перехода окраски из винно-красной до синей.

Общую жесткость пробы  $x$ , мг-экв/л, вычисляют по формуле:

$$x = \frac{N \cdot V \cdot 1000}{100} \quad (13)$$

где  $N$  – нормальность раствора трилона Б;

$V$  – количество раствора трилона Б, израсходованного на титрование, мл.

В кислой среде необходимо параллельно определить кислотность, а затем в пробу для определения жесткости добавить эквивалентное количество щелочи, пошедшее на нейтрализацию кислотности и производить определение обычным способом.

#### **3.4.2. Кальциевая жесткость воды**

Ион кальция в щелочной среде при рН выше 10 с мурексидом образует соединения, окрашенные в оранжево-розовый цвет. В этих условиях магний не титруется трилоном Б.

Для определения в колбу отбирают пипеткой 100 мл пробы, содержащей не более 15 мг кальция или меньшее количество пробы, разбавленное до 100 мл дистиллированной водой.

Кислые пробы при анализе нейтрализуют добавлением щелочи в количестве, эквивалентном кислотности пробы. При анализе проб, щелочность которых превышает 6 мг-экв/л, добавляют эквивалентное количество 0,1 н соляной кислоты, кипятят 1 минуту и охлаждают.

Затем прибавляют 2 мл едкого натра, индикатор и титруют трилоном Б до изменения окраски из розовой в лиловую.

Помимо перечисленных вредных влияний на точность определения могут влиять фосфаты. При высоком содержании фосфатов при рН 12–13 выпадает осадок фосфата кальция. Для устранения влияния фосфатов раствор разбавляют.

### **Реактивы и оборудование**

- коническая колба емкостью 250 мл;
- 100 мл исследуемой воды;
- 2 н раствор NaOH;
- индикатор мурексид;
- 0,1 н раствор трилона Б.

### **Проведение анализа**

В коническую колбу емкостью 250 мл вносят 100 мл исследуемой воды. Затем прибавляют 2 мл 2 н раствора NaOH, на кончике ложечки вносят в колбу немного сухого индикатора мурексида и медленно титруют 0,1 н раствором трилона Б при энергичном перемешивании до перехода окраски от красной до лиловой.

Расчет содержания иона  $\text{Ca}^{2+}$  в воде производят по формуле

$$[\text{Ca}^{2+}] = \frac{V \cdot K \cdot N \cdot 1000}{W} \quad (14)$$

где  $V$  – количество раствора трилона Б в мл, израсходованное на титрование;

$K$  – поправочный коэффициент к титру раствора трилона Б;

$N$  – нормальность раствора трилона Б;

$W$  – объем исследуемой воды в мл.

### **3.4.3. Магниева жесткость воды**

Магниевую жесткость определяют расчетным способом, вычитая результаты определения кальциевой жесткости из общей жесткости.

Содержание ионов магния  $\text{Mg}^{2+}$  вычисляют по формуле:

$$[\text{Mg}^{2+}] = (A - B)L \text{ мг/л}, \quad (15)$$

где  $A$  – общая жесткость воды, мг-экв/л;

$B$  – кальциевая жесткость воды, мг-экв/л;

$L$  – эквивалент магния, мг/л.

### **3.5. Окисляемость воды**

Окисляемостью называется величина, характеризующая общее содержание в воде восстановителей (неорганических и органических), реагирующих с сильными окислителями. Таким образом, окисляемость – один из показателей степени загрязнения воды органическими веществами и легко окисляющихся неорганических соединений (солей железа, сульфатов, нитратов, сероводорода).

В воде природных и особенно рыбоводных водоемов содержится много различных органических веществ, на окисление которых расходуется значительная часть кислорода, растворенного в воде. Кроме того, органические вещества являются плодотворной средой для развития микробов, в том числе болезнетворных. Очень большое количество органических веществ поступают в водоемы со сточными водами крахмальных заводов, молокозаводов, животноводческих комплексов и ферм.

Следует указать, что окисляемость чистых речных вод 4...8 мг кислорода на 1 литр воды. Вода, используемая для хозяйственных нужд не должна иметь

окисляемость выше 3 мг кислорода на 1 литр. Максимальная окисляемость вод рыбоводного хозяйства 10...15 мг кислорода на 1 литр.

Результаты определения окисляемости обычно выражают в мг кислорода, эквивалентного расходу окислителя на 1 л пробы.

Для определения окисляемости природных вод, которые не содержат трудноокисляемые вещества, обычно используют перманганатный метод. Для определения окисляемости сточных вод и поверхностных вод, содержащих трудноокисляемые вещества, рекомендуется бихроматный метод (бихромат-ион более сильный окислитель, чем перманганат-ион).

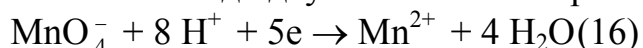
Соответственно, различают перманганатную и бихроматную окисляемость.

### 3.5.1. Перманганатный метод (метод Кубеля)

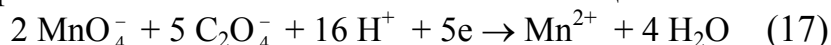
#### *Сущность метода*

Метод основан на окислении веществ, присутствующих в пробе воды 0,1 н раствором перманганата калия в сернокислой среде при кипячении.

Перманганат-ион в сильноокислых средах окисляет присутствующие в воде восстановители, восстанавливаясь до двухвалентного марганца:



Избыток перманганата калия восстанавливается щавелевой кислотой:



Не вступившая в реакцию щавелевая кислота оттитровывается перманганатом калия по приведенному выше уравнению.

**Условия применимости метода.** Метод применим для определения окисляемости питьевых, поверхностных и малозагрязненных сточных вод. Без разбавления можно определять окисляемость до 10 мг кислорода на литр. Наивысшее допустимое разбавление проб – десятикратное. Пробы консервируют добавлением 2 мл разбавленной (1:2) серной кислоты на каждые 100 мл воды. Пробы питьевых вод надо консервировать, если они не могут быть проанализированы в течение 48 часов после их отбора, пробы поверхностных вод надо консервировать, если анализ их будет проводиться позже, чем через 24 часа; пробы сточных вод и сильно загрязненных поверхностных вод можно не консервировать только в том случае, если их будут анализировать в тот же день, через несколько часов после отбора.

#### *Реактивы и оборудование*

- серная кислота, разбавленный раствор (Приложение 4);
- щавелевая кислота 0,1 н. и 0,01 н. растворы; основной раствор и рабочий (Приложение 4);
- перманганат калия, 0,1 н. и 0,01 н. растворы; основной и рабочий раствор (Приложение 4);
- плоскодонные колбы для кипячения емкостью от 250 до 300 мл, предназначенные только для определения окисляемости;
- стеклянные шарики или обожженная пемза.

### Проведение анализа

Для определения окисляемости в воде неизвестного состава необходимо предварительно сделать качественное определение (ускоренный метод).

**Качественное определение перманганатной окисляемости.** В пробирку отбирают 10 мл воды, добавляют 0,5 мл серной кислоты (1:3) и 1 мл 0,01 н раствора перманганата калия. Пробирку рассматривают под углом 40°. Приблизженные данные получают через 40 мин при температуре 20 °С. Цвет пробы сравнивают со шкалой окраски, приведенной в табл. 3.1:

Таблица 3.1

Качественное определение окисляемости

Окраска в пробирке	Приближенная величина окисляемости, мг/л O <sub>2</sub>	Объем воды, необходимой для исследования, мл
Яркая лилово-розовая	1	100
Лилово-розовая	2	100
Слабая лилово-розовая	4	100
Слабая лиловато-розовая	6	100
Бледно-желтая	8	50
Розовато-желтая	12	25-50
Желтая	16	25

**Количественное определение перманганатной окисляемости.** В коническую термостойкую плоскодонную колбу емкостью 200...250 мл наливают 20 мл исследуемой и 80 мл дистиллированной воды, 5 мл разбавленной серной кислоты (1:3 по объему) и 10 мл 0,01 н. раствора перманганата.

В колбу вставляют небольшую воронку и кипятят жидкость в течение 10 мин (от начала кипячения). К горячей окрашенной жидкости добавляют из бюретки 10 мл 0,01 н. раствора щавелевой кислоты и горячий обесцвеченный раствор титруют 0,01 н. раствором перманганата до полного обесцвечивания.

Окисляемость  $x$  рассчитывают по формуле

$$x = \frac{(V_1 - V_d) \cdot K \cdot 8 \cdot N \cdot 1000}{W}, \quad (18)$$

где  $V_1$  – количество раствора  $\text{KMnO}_4$ , истраченного на титрование;  $V_d$  – объем  $\text{KMnO}_4$ , необходимый для окисления дистиллированной воды (10 мл);  $K$  – поправочный коэффициент нормальности перманганата калия;  $N$  – нормальность раствора перманганата калия;  $W$  – объем воды, взятой для анализа; 8 – эквивалентная масса кислорода, 1000 – пересчет объема на 1 л.

Если раствор при кипячении обесцветился или побурел, необходимо повторить определение с разбавленной пробой. Определение повторяют и тогда, когда перманганата расходуется более 60% добавленного количества. При титровании разбавленных проб не должно быть израсходовано менее 20% добавленного перманганата.

Для приведения перманганата калия точно к 0,01 н. концентрации находят коэффициент поправки  $K$ . Для этого в колбу, содержащую оттитрованную до слабо розового цвета горячую жидкость прибавляют 10 мл 0,01 н раствора щавелевой кислоты и оттитровывают перманганатом калия до розового оттенка. Коэффициент поправки равен отношению объема щавелевой кислоты к объему перманганата калия.

### **3.6. Растворенные газы (углекислый газ, сероводород, кислород)**

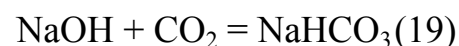
#### **3.6.1. Углекислый газ**

Углекислый газ – источник углерода для растений, без которого не было бы жизни в воде. Однако слишком высокие концентрации его угнетают жизненные процессы. Углекислый газ оказывает существенное влияние на концентрацию водородных ионов. Кроме того, он является важным фактором круговорота углерода в природе. В реках и озерах концентрация углекислого газа редко превышает 20–30 мг/л. Максимум его бывает в конце зимы.

Присутствие в пресных водоемах растворенного  $\text{CO}_2$  обусловлено биохимическими процессами окисления органических веществ, содержащихся в водоемах и в почве, а также дыханием водных организмов и выделением его при геохимических процессах.

#### ***Сущность метода***

Содержание углекислоты определяют титрованием 0,1 н раствором NaOH в присутствии фенолфталеина до появления розовой окраски раствора, соответствующей окраске стандартного раствора сравнения, рН которого по фенолфталеину равен 8,4:



#### ***Реактивы и оборудование***

- коническая колба на 250 мл;
- дистиллированная вода;
- 10% раствор NaOH;
- 0,1% раствор фенолфталеина.

#### ***Проведение анализа***

Для приготовления раствора сравнения в колбу наливают 200 мл дистиллированной воды, прибавляют 0,5 мл 10% раствора едкого натра и 0,2 мл разбавленного (0,1%) раствора фенолфталеина.

Концентрацию растворенного углекислого газа определяют по формуле

$$x = \frac{V_x \cdot N \cdot 1000}{V}, \quad (20)$$

где  $x$  – концентрация углекислого газа;

$V_x$  – объем NaOH, пошедший на титрование, соответственно;

$N$  – нормальность раствора NaOH;

$V$  – объем исследуемой воды, взятой на титрование, мл.

### 3.6.2. Сероводород

Сероводород встречается в основном в подземных водоисточниках, образуясь в результате восстановления и разложения некоторых минеральных солей, в поверхностных водах он почти не встречается, так как легко окисляется. Появление его в поверхностных источниках является следствием протекания гнилостных процессов или сброса сточных вод.

#### *Сущность метода*

Содержание сероводорода определяют колориметрически, используя реакцию сероводорода с ацетатом или нитратом свинца, в результате которой образуется осадок черного цвета PbS. В щелочной среде осадок растворяется. Интенсивность окрашивания раствора сравнивают со шкалой.

Приблизительно содержание сероводорода определяют с реактивом Каро (Приложение 4). При добавлении реактива Каро окраска раствора изменяется от светло-зеленой до интенсивно синей, в зависимости от концентрации сероводорода.

#### *Реактивы и оборудование*

- щелочной раствор соли свинца (к 5% раствору нитрата или ацетата свинца добавить порциями 10% раствор щелочи до растворения образующегося осадка, затем ввести еще 25 мл);
- стандартный раствор сульфида натрия, содержащий 1 мг  $H_2S$ /мл, (растворить 0,705 г кристаллического химически чистого сульфида натрия в 1 л дистиллированной воды), раствор нестойкий;
- шкала стандартных растворов. В пробирки добавляют 1, 2, 3, 4 и 5 мл стандартного раствора сульфида натрия. Затем доводят объем до 20 мл щелочным раствором соли свинца.

#### *Проведение анализа*

В пробирку наливают 10 мл исследуемой воды и прибавляют 3 мл реактива Каро. В зависимости от содержания сероводорода в воде окраска изменяется от светло-зеленой до интенсивно-синей. Параллельно к 10 мл дистиллированной воды прибавляют 3 мл реактива Каро и сравнивают полученную окраску с окраской исследуемой воды. Содержание сероводорода определяют по табл.3.2

Таблица 3.2

Приближенное определение сероводорода

Окраска раствора	Содержание сероводорода, мг/л
При рассматривании сверху отсутствует	0,03
При рассматривании сверху светло-зеленая	0,06

Через 2 минуты при рассматривании сбоку разницы с контрольной пробиркой нет, сверху зеленоватая	0,1
Через 1 минуту при рассматривании сбоку – слабая светло-зеленая	0,2
Через ½ мин – светло-зеленая	1,0
Через ½ мин – зелено-синяя	2

### 3.6.3. Растворенный кислород (метод Винклера)

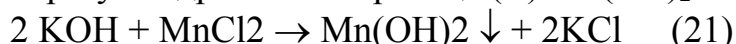
Содержащийся в воде растворенный кислород поступает из атмосферного воздуха, а также образуется в результате фотосинтеза водорослями органических веществ (углеводов) из неорганических ( $\text{H}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ). Содержание кислорода в воде уменьшается вследствие протекания процессов окисления органических веществ и потребления его живыми организмами при дыхании.

Определение растворенного в воде кислорода проводят йодометрическим титрованием в присутствии крахмала (метод Винклера). Метод Винклера применим для определения кислорода в природной воде при содержании в воде не более 0,1 мг/л азота нитратов, не более 10 мг/л окисного железа, не более 0,3 мг/л активного хлора и при окисляемости не более 15 мг $\text{O}_2$ /л.

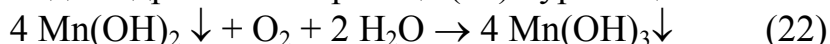
#### Сущность метода

Метод Винклера представляет собой йодометрическое титрование, когда о концентрации  $\text{O}_2$  судят по количеству выделившегося йода.

В склянку с пробой вводят раствор сульфата или хлорида  $\text{Mn}$  (II) и щелочной раствор  $\text{KI}$ .  $\text{Mn}$  (II) реагирует с  $\text{KOH}$ , образуя гидроокись марганца (II)  $\text{Mn}(\text{OH})_2$ .



Это осадок белого цвета, неустойчивое соединение, которое легко окисляется растворенным в воде кислородом до гидроокиси марганца (III) бурого цвета



Осадок  $\text{H}_2\text{MnO}_3$  растворяют в соляной или серной кислоте. При этом  $\text{Mn}$  (III) восстанавливается до  $\text{Mn}$  (II) и выделяется свободный йод, в количестве, эквивалентном количеству растворенного кислорода:



Суммарное уравнение (22) и (23):



Выделившийся йод оттитровывают раствором тиосульфата натрия в присутствии крахмала:



#### Реактивы и оборудование

- 42,5% раствор  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ;
- $\text{HCl}$  или  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , концентрированная;
- $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , 0,01 н (фиксанал);



- крахмал, 1% раствор;
- щелочная смесь (70 г КОН и 15 г KI растворяют в дистиллированной воде и доводят общий объем раствора до 1000 мл).

### **Подготовка к проведению анализа**

**Калибровка склянок.** Склянки взвешивают на технохимических весах сначала пустые, затем заполненные дистиллированной водой. Разность двух взвешиваний равна весу воды в склянке.

**Заполнение склянки.** Перед заполнением каждая склянка ополаскивается исследуемой пробой. Склянки заполняют доверху, переливая часть пробы. Заполнять осторожно, чтобы исключить попадание пузырьков воздуха. Попавшие в склянку пузырьки удаляют, оставив склянку открытой в течение 1 мин и постукивая по стенкам склянки. При заполнении склянки следует избегать попадания прямых солнечных лучей.

**Консервирование пробы.** Содержание растворенного кислорода в пробе фиксируют, добавляя в склянки поочередно: 1 мл  $MnCl_2$  и 1 мл щелочного раствора KI. Пипетки при этом держат под самой поверхностью воды. Потерянные 2 мл пробы учитывают при последующем расчете. После фиксации склянку закрывают и переворачивают несколько раз.

После этого пробы помещают в темное место для отстаивания осадка. Законсервированная проба может храниться в течение суток.

### **Проведение анализа**

Количество растворенного кислорода определяют в откалиброванных склянках емкостью 150...200 мл.

После добавления осадителей ( $MnCl_2$  и KI) осадок отстаивают (см. консервирование пробы). После отстаивания пробы осадок растворяют, добавляя 1...3 мл концентрированной серной кислоты (кончик пипетки – под поверхностью раствора). Закрывают склянку пробкой и перемешивают пробу до полного растворения осадка. Затем отбирают аликвоту 25...100 мл в коническую колбу и титруют раствором тиосульфата натрия до соломенно-желтой окраски.

После этого добавляют 1...2 мл крахмала (появляется синяя окраска) и продолжают титровать тиосульфатом до полного обесцвечивания. Результат записывают. Повторяют определение 2...3 раза.

Концентрацию растворенного кислорода рассчитывают по формуле:

$$O_2 = \frac{n \cdot N \cdot K \cdot 8 \cdot 1000}{V_1 - V_2}, \text{ мг/л} \quad (27)$$

где  $n$  – количество тиосульфата, пошедшего на титрование;

$N$  – нормальность тиосульфата;

$K$  – поправка на нормальность тиосульфата;

8 – эквивалентная масса кислорода;

1000 – пересчет на 1 л пробы;

$V_1$  – объем титрованной пробы;

$V_2$  – количество утерянной пробы, равное объему реактивов (раствор KI и  $MnSO_4$ ), взятых для осаждения (при титровании всего объема склянки).

### 3.7. Определение азотсодержащих веществ

Азотсодержащие вещества: нитриты, нитраты и ион аммония часто относят к санитарным показателям качества воды, так как они, наряду с бактериологическими показателями, свидетельствуют о загрязнении воды хозяйственно-бытовыми сточными водами.

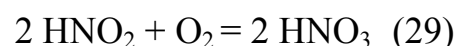
Азотсодержащие вещества образуются в воде главным образом в результате разложения белковых соединений. Поэтому, резкое повышение содержания концентрации азотсодержащих соединений может свидетельствовать либо о чрезмерном развитии водной растительности и планктона в результате сезонного цветения водоема, либо о загрязнении водоема сточными водами. Например, бытовыми стоками, сточными водами содовых, коксобензольных, азотно-туковых и других заводов.

Белковые соединения под воздействием микроорганизмов подвергаются разложению, конечным продуктом которого является аммиак. Поэтому, наличие аммиака всегда вызывает подозрение о загрязнении воды бытовыми сточными водами, фекалиями. Подтвердить предположение о загрязнении воды в санитарном отношении можно при помощи микробиологического анализа (см. раздел «Санитарно-биологический анализ воды, работа2»).

После сброса стоков в водоем, в водоеме развиваются процессы самоочищения: растворенный в воде аммиак при окислении кислородом воздуха под воздействием нитробактерий (*Nitrosomonas* и *Nitrobacter*) постепенно превращается в азотистую:



а затем в азотную кислоту:



Первая стадия окисления протекает значительно быстрее, чем вторая. Поэтому, по наличию того или иного азотсодержащего вещества можно судить о моменте загрязнения воды (или о степени сапробности водоема):

- наличие в воде аммиака и отсутствии нитритов свидетельствует о недавнем загрязнении (полисапробная зона);
- наличие и аммиака и нитритов – о том, что с момента загрязнения прошел некоторый промежуток времени, т.к. произошло частичное окисление аммиака с образованием нитритов (мезосапробная зона);
- отсутствие аммиака при наличии нитритов и, особенно, нитратов – что загрязнение воды произошло давно и за это время вода самоочистилась (олигосапробная зона).

Определение содержания в воде азотсодержащих веществ основано на образовании ими окрашенных соединений с различными реактивами.

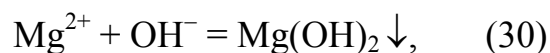
### 3.7.1. Определение содержания иона аммония

Ионы аммония и аммиак появляются в грунтовых водах в результате жизнедеятельности микроорганизмов. Так же объясняется присутствие их в питьевых водах, если эти вещества не прибавляли в смеси с хлором при водоподготовке. В поверхностных водах аммиак появляется в небольших количествах, обыкновенно в период вегитации, в результате разложения белковых веществ. В анаэробной среде аммиак образуется при восстановлении органических веществ. Вследствие жизнедеятельности нитрифицирующих бактерий содержание аммиака в водоемах снижается при одновременном образовании нитратов. Повышенное содержание аммиака в поверхностных водах объясняется спуском в них бытовых сточных вод и некоторых промышленных вод, содержащих значительные количества аммиака или солей аммония, являющихся отходами производства.

#### *Сущность метода*

Метод основан на способности аммиака и ионов аммония образовывать окрашенное в желто-коричневый цвет соединение с реактивом Несслера в присутствии сегнетовой соли. При малых концентрациях аммиака в воде раствор окрашивается в желтый цвет, а при больших – появляется красно-бурый осадок.

Сегнетовую соль  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$  прибавляют для предотвращения побочной реакции между ионами  $\text{Mg}^{2+}$  и гидроксид-ионами (ионы магния всегда присутствуют в воде в некоторых количествах, а ионы  $\text{OH}^-$  вносятся в раствор с реактивом Несслера):



поскольку гидроксид магния, осаждающийся в виде белой мути, мешает колориметрическому определению.

**Мешающие влияния.** Мешающее влияние остаточного активного хлора устраняют добавкой серноватисто-кислого натрия, жесткости – добавлением раствора сегнетовой соли, большого количества железа, цветности и мутности – предварительным осветлением раствора гидроокисью алюминия.

**Консервирование проб.** Если пробу невозможно проанализировать сразу, ее хранят при температуре 3...4 °C не более суток или консервируют добавлением 1 мл концентрированной серной кислоты или 2...4 мл хлороформа на каждый литр воды. Срок хранения консервированных проб 2 суток.

#### *Реактивы и оборудование*

- исследуемая вода;
- сегнетовая соль, 50% раствор;
- реактив Несслера, 50% раствор;
- пипетки объемом 2 и 10 мл;
- пробирка – для ускоренного определения;
- два цилиндра Генера – для определения с колориметрическими цилиндрами;

– мерные колбы емкостью 50 и 100 мл, фотоэлектроколориметр, стандартные растворы – для фотометрического определения.

### **Проведение анализа**

**Ускоренный метод.** К 10 мл раствора (в пробирку) приливают 0,3 мл 50% сегнетовой соли и 0,5 мл 50% реактива Несслера. Через 10 минут определяют содержание азота аммиака и солей аммония по данным табл. 3.3 или сравнением с эталонами.

Более точно содержание азота аммиака определяют в цилиндрах для колориметрирования или на фотоколориметре.

**Колориметрическое определение с цилиндрами Генера.** В цилиндр 1 наливают 100 мл исследуемой воды. В цилиндр 2 – стандартный раствор с известной концентрацией соли аммония. Стандартный раствор готовят растворением 1 или 2 мл раствора хлорида аммония, содержащего 0,01 мг азота в 1 мл, до 100 мл безаммиачной водой. Затем в оба цилиндра наливают по 2 мл 50% сегнетовой соли и 50% реактива Несслера. Через 10 минут определяют содержание азота аммиака и солей аммония, отливая воду из цилиндра 1 до тех пор, пока окраска в цилиндрах не станет одинаковой (при рассматривании сверху)

Концентрацию иона аммония рассчитывают по формуле:

$$x = \frac{C_{\text{ст}} \cdot h_{\text{ст}}}{h_{\text{исс}}}, \quad (31)$$

где  $C_{\text{ст}} = 0,01 \cdot V \cdot 1000 / 100$  – концентрация иона азота аммиака в стандартном растворе, мг/л;  $V$  – объем раствора хлорида аммония, содержащего 0,01 мг/мл азота аммиака, мл;  $h_{\text{ст}}$  и  $h_{\text{исс}}$  – соответственно, высоты столбов стандартного и исследуемого растворов.

Таблица 3.3

Содержание азота аммиака в зависимости от окраски исследуемого раствора

Окраска при рассматривании		Содержание азота аммиака, мг/л
Сбоку	сверху	
Нет	Нет	0.04
Нет	Едва заметная	0.08
Едва заметная	Светло-желтая	0.2
Светло-желтая	Желтоватая	0.4
Светло-желтая	Светло-желтая	0.8
Светло-желтая	Желтая	2
Желтая	Интенсивная желто-бурая	4

**Фотоколориметрическое определение.** В колбу емкостью 100 мл наливают 50 мл исследуемой воды, по 1 мл 50% сегнетовой соли и 50% реактива Несслера, смесь тщательно перемешивают. Через 10 минут определяют оптическую плотность раствора в кювете с толщиной поглощающего слоя 30 мм при синем светофильтре № 4. Затем определяют оптические плотности стандартных растворов  $D_{\text{ст}}$  с концентрацией азота аммиака  $C_{\text{ст}} = 0,1$  и  $0,2$  мг/л, к которым

прибавлены такие же реактивы. Содержание азота аммиака  $x$  рассчитывают по формуле

$$x = \frac{C_{\text{ст}} \cdot D}{D_{\text{ст}}}, \quad (32)$$

используя данные для двух стандартных растворов, а затем определяя среднее значение.

### 3.7.2. Определение содержания нитритов

Нитриты являются промежуточным продуктом биохимического окисления аммиака или восстановления нитратов. Их присутствие свидетельствует о фекальном загрязнении воды. В поверхностных водах нитриты быстро переходят в нитраты. Они присутствуют в концентрациях от нескольких микрограммов до десятых долей миллиграмма в 1 л. В большем количестве они находятся в некоторых промышленных и биологически очищенных сточных водах. Вследствие нестойкости нитритов их надо определять сразу же после отбора проб. Если это невозможно, пробу консервируют добавлением 1 мл концентрированной  $\text{H}_2\text{SO}_4$  или 2...4 мл хлороформа на 1 л. Можно также охлаждать пробу до 3–4 °С.

#### *Сущность метода*

Наиболее простой способ определения содержания нитритов – определение с реактивом Грисса. Реактив Грисса представляет собой смесь растворов сульфаниловой кислоты и -  $\alpha$  нафтиламина. Эти растворы при отсутствии нитритов между собой не реагируют, а в их присутствии образуют соединение красно-фиолетового цвета. Причем интенсивность окраски пропорциональна концентрации нитрит-иона.

Окраска раствора с течением времени усиливается, поэтому оптическую плотность измеряют через определенный промежуток времени. Протекание процесса зависит от кислотности среды. Оптимальное значение pH находится в интервале 1,7–3,0. Чувствительность метода составляет 0,003 мг/л. При  $\lambda=520$  нм молярный коэффициент поглощения составляет 4,0 л/см·моль. Анализируемый раствор не должен содержать окислителей, восстановителей, окрашенных веществ, мочевины и алифатических аминов, так как последние могут вступать в реакцию с нитритами.

**Мешающие влияния.** Определению мешают тяжелые металлы, а также мутность и цветность исследуемой воды. Последнюю устраняют добавлением коагулянта ( $\text{Al}(\text{OH})_3$ ).

#### *Реактивы и оборудование*

- основной стандартный раствор - 1 мг/мл нитритов;
- рабочий стандартный раствор - 1 мл основного стандартного раствора разбавляют дистиллированной водой до 1 л, раствор содержит 0,001 мг/мл нитритов;
- реактив Грисса.

### Проведение анализа

Методика фотометрического определения предназначена для анализа воды, содержащей не более 0,3 мг/л нитритов. Поэтому, предварительно проводят ускоренное, полуколичественное определение нитритов. Это позволяет оценить необходимую степень разведения пробы.

**Ускоренный метод (качественный).** В пробирку наливают 10 мл исследуемой воды, прибавляют 0,5 мл реактива Грисса и нагревают смесь на водяной бане при температуре 70 °С в течение 5 мин. Окраску полученной смеси сравнивают с окраской эталонных образцов или определяют содержание азота нитритов, используя данные, приведенные в табл. 3.4

**Фотометрическое определение нитритов.** К 50 мл исследуемой пробы, содержащей не более 0,3 мг нитритов, добавляют 2 мл реактива Грисса и перемешивают. После 40 мин выдержки при комнатной температуре (или 10 мин на водяной бане) фотометрируют растворы при  $\lambda=520$  нм и выбранной толщине поглощающего слоя относительно раствора сравнения. Содержание нитритов определяют по градуировочному графику.

**Построение градуировочного графика.** В мерную колбу емкостью 50 мл помещают аликвоту рабочего стандартного раствора в соответствии с табл.3.5, приливают реактивы, доводят до метки дистиллированной водой. Затем измеряют оптическую плотность при постоянной длине волны и строят калибровочный график  $D = f(C_{NO_2})$ .

Таблица 3.4

Содержание азота нитритов в зависимости от окраски исследуемого раствора

Окраска при рассматривании		Содержание азота нитритов, мг/л
Сбоку	Сверху	
Нет	Нет	0.001
Едва заметная розовая	Заметная розовая	0.002
Очень светло-розовая	Светло-розовая	0.004
Бледно-розовая	Светло-розовая	0.02
Светло-розовая	Розовая	0.04
Розовая	Ярко-розовая	0.07
Ярко-розовая	Красная	0.02
Красная	Ярко-красная	0.4

Таблица 3.5

Приготовление стандартных растворов

V ал.	0	0.1	0.2	0.5	1	2	5	10	15
$C_{NO_2}$ , мг/л									

### 3.7.3. Определение содержания нитратов

Нитраты встречаются почти во всех видах вод. В поверхностных и родниковых водах количество их незначительно. Однако в некоторых

родниковых водах концентрация нитратов высока. Большое количество нитратов указывает иногда на загрязнение в прошлом фекальными водами. Определение нитратов в грунтовых водах служит оценкой характера процессов минерализации при фильтровании воды через почвенные слои. При исследовании поверхностных вод по содержанию нитратов можно судить о протекающих процессах самоочищения, а при биологической очистке сточных вод – о процессе нитрификации. Некоторые промышленные сточные воды содержат значительные количества нитратов.

### ***Сущность метода***

Определение основано на реакции между салициловой кислотой и нитрат-ионами с образованием нитропроизводных салициловой кислоты, которые в щелочной среде окрашены в желтый цвет.

**Мешающие влияния.** Определению мешает ион хлора, если его массовая концентрация превышает  $500 \text{ мг/дм}^3$ , и железо, если его массовая концентрация превышает  $0,5 \text{ мг/дм}^3$ . Для устранения мешающего влияния ионов хлора воду разбавляют. Для устранения влияния железа – добавляют сегнетову соль.

### ***Реактивы и оборудование***

- дистиллированная вода;
- кислота серная, концентрированная, плотность –  $1,83 \text{ мг/дм}^3$ ;
- 10% раствор салициловой кислоты;
- сегнетова соль  $0,1 \text{ г}$ ;
- 20% раствор гидроокиси натрия;
- фарфоровая чашка, стеклянная палочка, пробирки объемом  $5 \text{ мл}$ ;
- посуда мерная: пипетка с делениями объемом  $1 \text{ мл}$ , цилиндр мерный или мерная пробирка объемом  $5\ldots 10 \text{ мл}$  или мерная пробирка объемом  $10 \text{ мл}$ .

### ***Проведение анализа***

В небольшую фарфоровую чашку наливают пипеткой  $1 \text{ мл}$  анализируемой воды. Если концентрация ионов железа превышает  $0,5 \text{ мг/дм}^3$ , в чашку вносят  $0,1 \text{ г}$  сегнетовой соли. Содержимое чашки выпаривают досуха на водяной бане. После охлаждения в чашку добавляют 4–5 капель салициловой кислоты так, чтобы смочить весь сухой остаток. Добавляют  $0,5 \text{ мл}$  серной кислоты. Растирают сухой остаток с кислотой по дну и стенкам чашки. Затем, не вынимая палочку из чашки, дают жидкости постоять около  $5 \text{ мин}$ , добавляют 3–4 мл дистиллированной воды, чтобы смыть стенки чашки. К полученному раствору добавляют 4–5 мл раствора гидроокиси натрия. При наличии в воде нитрат-ионов сразу появляется желтая окраска.

Затем содержимое чашки сливают в пробирку с меткой на  $10 \text{ мл}$ , ополаскивают чашку и палочку, добавляют слив в пробирку и доводят объем пробирки дистиллированной водой до метки. Затем, определяют концентрацию нитратов фотоколориметрическим методом, в цилиндрах Генера или по шкале.

### 3.8. Содержание общего железа, ионов железа (II, III)

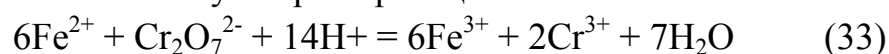
Железо постоянно присутствует в поверхностных и подземных водах; концентрация его в этих водах зависит от геологического строения и гидрологических условий бассейна. Высокое содержание железа в поверхностных водах указывает на загрязнение их шахтными или промышленными сточными водами, особенно водами металлообрабатывающих производств, травильных цехов и др.

Как правило, в растворе находится смесь ионов Fe (II) и Fe (III), поэтому, для определения содержания общего железа необходимо предварительно восстановить все железо до двухвалентного, а затем удалить избыток восстановителя. Наиболее распространенными методами определения концентрации ионов железа (II, III) и общего железа являются титриметрический бихроматный метод определения суммарного содержания железа для сточных и определение железа с ортофенантролином для природных и очищенных сточных вод.

#### 3.8.1. Титриметрический бихроматный метод

##### *Сущность метода*

Бихромат-ион в кислой среде является сильным окислителем и может быть использован для прямого определения многих восстановителей, например, Fe (II). В основе методики определения лежит суммарная реакция:



В качестве восстановителя используют металлический цинк, олово (II), алюминий. Точка эквивалентности в данном методе может фиксироваться с помощью Red-Ox – индикатора, либо с помощью индикаторов, образующих окрашенные соединения с титруемым веществом или титрантом. Чаще всего в качестве индикатора используется дифениламиносульфонат натрия.

Для ускорения реакции и полноты восстановления раствор перед титрованием подогревают.

Как отмечено выше, для определения содержания общего железа все трехвалентное железо необходимо предварительно восстановить до двухвалентного. Содержание  $\text{Fe}^{2+}$  находят аналогично, но восстановитель не добавляют и раствор не нагревают. Концентрацию ионов  $\text{Fe}^{3+}$  находят, вычитая из общего количества железа количество железа (II).

##### *Реактивы и оборудование*

- $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1:3);
- Al - порошок;
- стандартный раствор  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  – 0,1 н (фиксанал), титр раствора бихромата калия по железу;
- дифениламиносульфонат натрия, 0,5% водный раствор;
- защитная смесь: 150 мл  $\text{H}_3\text{PO}_4$ , 150 мл  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 500 мл  $\text{H}_2\text{O}$ .



### ***Проведение анализа***

100 мл исследуемой воды помещают в термостойкую коническую колбу, добавляют 20 мл  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1:3) и нагревают до кипения. После 5-минутного кипячения охлаждают до 50 °С и 0,4 г порошка алюминия, затем снова нагревают до полного растворения алюминия. По окончании растворения раствор охлаждают, добавляют дистиллированную воду до первоначального объема, 12,5 мл защитной смеси, 20 мл  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1:3) и титруют в присутствии индикатора бихроматом калия до перехода окраски.

Содержание железа в исследуемой пробе рассчитывают по формуле

$$x = T_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{Fe}} \cdot (V_2 - V_1), \quad (34)$$

где  $T_{\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{Fe}}$  – титр раствора бихромата по железу, г/мл;

$V_2$  – объем раствора бихромата, израсходованный на титрование исследуемого раствора;

$V_1$  – объем раствора бихромата, израсходованный на титрование холостой пробы.

### **3.8.2. Определение ортофенантролином**

#### ***Сущность метода***

Метод основан на способности ионов двухвалентного железа образовывать в интервале pH 3...9 с ортофенантролином комплексное соединение, окрашенное в оранжево-красный цвет. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации железа.

Окисное железо предварительно восстанавливают до закисного солянокислым гидроксиламином в нейтральной или слабокислой среде.

#### ***Реактивы и оборудование***

- 10% раствор NaOH;
- HCl, 1:10 по объему;
- 10% раствор солянокислого гидроксиламина ( $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ );
- ацетатный буферный раствор;
- 0,1% раствор ортофенантролина;
- основной раствор: растворяют в дистиллированной воде 0,8634 г  $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4) \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  ч.д.а., высушенного в эксикаторе при нормальной температуре, прибавляют 2 мл концентрированной HCl и доводят объем до 1 л; 1 мл раствора содержит 0,100 мг железа;
- рабочий раствор: разбавляют 50,0 мл основного раствора до 1 л дистиллированной водой, каждый раз приготавливают свежий рабочий раствор; 1 мл раствора содержит 0,005 мг железа.

### ***Проведение анализа***

10 мл анализируемой воды в зависимости от pH среды доводят из капельниц 10% раствором гидроокиси натрия или соляной кислотой в присутствии

индикаторной бумаги Конго до перехода окраски бумаги в фиолетовый цвет (рН=4–5). Приливают поочередно 0,5 мл раствора солянокислого гидроксилamina, 1 мл ацетатного буферного раствора и 1 мл раствора ортофенантролина. После прибавления каждого реактива содержимое пробирки перемешивают. Оставляют раствор на 20 мин для полного проявления окраски.

Окрашенный раствор отливают в колориметрическую пробирку до метки 5 см<sup>3</sup> и сравнивают со шкалой эталонов. Если окраска жидкости интенсивнее крайнего эталона, анализируемую воду разбавляют в 10 раз и определение повторяют. При вычислении результатов учитывают коэффициент разбавления.

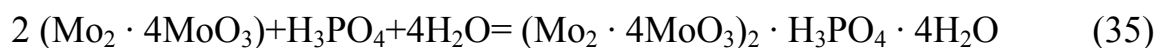
Для приготовления шкалы эталонов пользуются разбавленными стандартными растворами соли Мора, приготовленными по ГОСТ 4212-76.

### 3.9. Содержание фосфатов

Природные воды содержат небольшое количество фосфатов, обычно не превышающее десятых долей – 1 мг/л.

#### *Сущность метода*

Для определения фосфатов применяют колориметрический метод, основанный на образовании комплексной фосфорномолибденовой кислоты, окрашенной в интенсивно синий цвет (молибденовая синь):



Чувствительность метода от  $2 \cdot 10^{-3}$  до  $2 \cdot 10^{-3}$  мг  $\text{HPO}_4^{2-}$  в 1 л воды.

Мешающие влияния. Определению мешают кремнекислота при концентрации более 100 мг/л, большие количества хлоридов.

Влияние кремнекислоты может быть устранено разбавлением. Влияние железа может быть устранено или разбавлением пробы, или переводом трехвалентного железа в двухвалентное, которое не мешает определению.

Трехвалентное железо восстанавливают до двухвалентного с помощью металлического алюминия: пробу помещают в химический стаканчик емкостью 100 мл, нагревают раствор до кипения, снимают с огня и прибавляют в горячий раствор на кончике ножа порошок металлического алюминия. Раствор перемешивают, закрывают часовым стеклом и оставляют стоять до обесцвечивания. Дают бесцветному раствору охладиться до комнатной температуры и определяют фосфаты.

Влияние больших концентраций хлоридов, в присутствии которых возникает сине-зеленая окраска вместо синей, устраняется сравнением окраски исследуемой пробы с контрольной пробой, содержащей хлориды в той же концентрации. Сильнокислые или сильно щелочные воды предварительно нейтрализуют по универсальной индикаторной бумаге. Мешающее действие нитритов, при содержании их до 25 мг/л, устраняется добавлением к пробе 0,1 г сульфаниловой кислоты.

**Ход анализа** В один из цилиндров для колориметрирования наливают 50 мл исследуемой воды, в другом готовят эталонный раствор. Для этого (в зависимости

от содержания фосфатов в воде) приливают 1–3 мл стандартного раствора, содержащего 0,001 мг в мл  $HPO_4^{2-}$ . Доводят объемы в обоих цилиндрах до 90 мл дистиллированной водой, добавляют по 2 мл сернокислого раствора молибдата аммония и дистиллированную воду до объема 100 мл, тщательно перемешивают, прибавляют по 2 капли раствора двухлористого олова и снова тщательно перемешивают. По истечении 10 мин, уравнивают окраски исследуемого и эталонного растворов на белом фоне в цилиндрах Генера.

Содержание фосфатов  $X$  (в мг/л) рассчитывают по формуле

$$X = \frac{H_1 \cdot V_1 \cdot C \cdot 1000}{H \cdot V} \quad (36)$$

где  $H_1$  – высота столба стандартного раствора, мм;

$V_1$  – объем стандартного раствора, взятый для определения в мл;

$C$  – концентрация стандартного раствора  $HPO_4^{2-}$  мг/мл;

$H$  – высота столба исследуемого раствора, мм;

$V$  – объем исследуемой воды, мл.

Колориметрирование фосфатов можно производить на фотоколориметре при длине волны  $\lambda=690-720$  мкм (красный светофильтр) в кюветах толщиной 2...5 см.

### Расчет

$$X = \frac{A \cdot 1000}{V} \text{ мг/л}, \quad (37)$$

где  $X$  – содержание фосфатов в исследуемой воде, мг/л;

$A$  – содержание фосфатов в пробе, мг;

$V$  – объем воды, взятой на анализ, мл.

Калибровочная кривая строится следующим образом: в ряд мерных колб емкости 100 мл отмеривают пипеткой **0,0;1,0...10,0 мл** рабочего стандартного раствора и объем доводят до метки дистиллированной водой. Стандартные растворы обрабатывают так же, как анализируемый раствор, колориметрируют на фотоколориметре. По полученным результатам строится калибровочная кривая. На точность определения влияет температура. Работу проводят по возможности всегда при той же температуре, лучше при 18–20 °С.

### Реактивы

- Раствор молибдата аммония и серной кислоты;
- Раствор хлористого олова;
- Стандартный раствор фосфата.

### 3.10. Содержание хлорид-ионов

Хлориды являются составной частью большинства природных вод. Большое содержание хлоридов геологического происхождения в поверхностных водах – явление редкое. Поэтому обнаружение большого количества хлоридов является показателем загрязнения воды бытовыми или некоторыми промышленными сточными водами. В промышленных сточных водах содержание хлоридов зависит от характера производства. Повышение содержания хлоридов в поверхностных

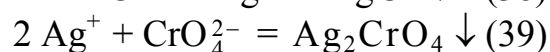
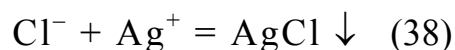
водах может служить мерилом загрязнения водоемов сточными водами. Хлориды, сульфаты, карбонаты отвечают за соленость воды. Поддержание определенного осмотического давления и ионного состояния растворов в теле животных обеспечивается сложными механизмами водно-солевого обмена. Для большинства водных организмов осмотическое давление в их теле зависит от концентрации растворенных солей в окружающей воде.

Вследствие большой растворимости хлоридов ионы  $\text{Cl}^-$  присутствуют практически во всех водах. Концентрация хлоридов в питьевой воде не должна превышать 300 мг/л, поскольку большие количества придают воде горько-соленый привкус.

### ***Сущность метода***

Вследствие большой растворимости хлоридов ионы  $\text{Cl}^-$  присутствуют практически во всех водах. Концентрация хлоридов в питьевой воде не должна превышать 300 мг/л, поскольку большие количества придают воде горько-соленый привкус.

Содержание в воде ионов хлора определяют титрованием раствором нитрата серебра при наличии индикатора хромата калия  $\text{K}_2\text{CrO}_4$ . При этом могут одновременно протекать две реакции:



Если одновременно протекают две реакции с образованием осадков, то сначала образуется менее растворимый осадок (в данном случае  $\text{AgCl}$  – белый творожистый осадок) и только после того, как он осядет, начинает осаждаться более растворимый осадок (кирпично-красный осадок  $\text{Ag}_2\text{CrO}_4 \downarrow$ ).

Поэтому, завершение реакции связывания ионов хлора в малорастворимый хлорид серебра определяют по появлению кирпично-красной окраски раствора после образования осадка хромата серебра.

### ***Реактивы и оборудование***

- исследуемая вода;
- нитрат серебра, ~0,05 н раствор;
- хромат калия, 10% раствор;
- мерная колба объемом 100 мл;
- коническая колба объемом 250 мл.

### ***Проведение анализа***

100 мл исследуемой воды отбирают пипеткой или мерной колбой на 100 мл в коническую колбу на 250 мл, приливают 1 мл 10% раствора хромата калия и титруют раствором нитрата серебра до появления кирпично-красной окраски. Содержание ионов хлора ( $x$ ) в исследуемой воде вычисляют по формуле:

$$x = \frac{V_{\text{T}} \cdot N_{\text{T}} \cdot \text{Э}_{\text{Cl}} \cdot 1000}{V_{\text{воды}}}, \quad (40)$$

где  $V_T$  – объем титранта (азотнокислого серебра);  $N_T$  – нормальность раствора титранта;  $\mathcal{E}_{Cl}$  – эквивалент хлора (35,5);  $V_{\text{воды}}$  – объем исследуемой воды, взятой на титрование, мл.

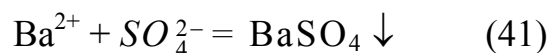
### 3.11. Определение содержания в воде сульфат-ионов

Естественное содержание сульфатов в поверхностных и грунтовых водах обусловлено выветриванием пород и биохимическими процессами в водоносных слоях. Их содержание определяет в известной мере некарбонатную жесткость воды. Содержание сульфатов в водоемах может быть повышенным вследствие сброса в них сточных вод с неорганическими и органическими соединениями серы. Концентрация сульфат – ионов влияет на механизмы водно–солевого обмена у гидробионтов.

Содержание сульфат-ионов по ГОСТ 2974-82 не должно превышать 500 мг/л. Большое количество сульфата нежелательно, так как ухудшаются органолептические показатели воды и возрастает ее агрессивность.

#### *Сущность метода*

Содержание сульфат-ионов определяют комплексонометрическим методом с трилоном Б. В исследуемую воду вводят ионы  $Ba^{2+}$  (раствор  $BaCl_2$ ), которые с ионами  $SO_4^{2-}$  образуют осадок:



При взаимодействии трилона Б с ионами  $Ba^{2+}$  образуется комплексное соединение. Содержание сульфатов определяется по разнице расхода трилона Б для связывания ионов бария до и после осаждения ионов  $SO_4^{2-}$ . Поскольку в исследуемой воде есть ионы кальция и магния, то на эти ионы необходимо делать соответствующие поправки.

#### *Реактивы и оборудование*

- исследуемая вода;
- соляная кислота, 0,1 н раствор;
- метиловый красный;
- раствор  $BaCl_2$ , содержащего ионы Mg (10 г  $BaCl_2 \cdot 2H_2O$  и 4 г  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$  в 1 л);
- мерная колба или пипетка объемом 50 мл;
- коническая колба объемом 200...250 мл;
- электроплитка.

#### *Проведение анализа*

В коническую колбу вместимостью 200 мл отмеривают пипеткой 50 мл исследуемой воды, прибавляют 1–2 капли раствора метилового красного и подкисляют раствор 0,1 н раствором соляной кислоты. Затем кипятят раствор 3...5 минут для удаления углекислого газа. К кипящему раствору прибавляют 1 мл раствора хлорида бария, содержащего ионы магния (10 г  $BaCl_2 \cdot 2H_2O$  и 4 г

$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  в 1 л ) и кипятить еще 10...15 с. Наличие в растворе ионов магния необходимо для более четкого определения конца титрования трилоном Б.

Затем, трилонометрическим методом определяют концентрацию сульфат-ионов.

## 4. САНИТАРНО-БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ВОДЫ

При стандартном санитарно-бактериологическом анализе воды санитарное состояние характеризуют двумя основными показателями:

- общим количеством бактерий в воде;
- количеством бактерий группы кишечной палочки (бактерий Coli).

### 4.1. Определение общего количества бактерий в воде

#### *Сущность метода*

Метод состоит в определении количества бактерий в 1 мл воды, которые способны расти на питательной среде (агаре) определенного состава при температуре 37 °С в течение 24 ч, образуя колонии, видимые при увеличении в 2...5 раз. Проведенным таким образом бактериологическим анализом можно определить количество только тех бактерий, которые развиваются в условиях анализа. Поэтому такое определение дает не абсолютную, а относительную бактериологическую характеристику воды. Бактериологический анализ позволяет сравнивать бактериальную загрязненность воды, отобранной из разных мест водоисточника, а также из одного его места в разные времена года.

Общее количество бактерий в 1 мл средней пробы неразбавленной хозяйственно-питьевой воды допускается не более 100.

#### *Оборудование и реактивы*

- чашки Петри стерильные;
- три пипетки на 1 мл;
- пипетка на 10 мл;
- стерильные пипетки на 0,1 мл;
- стерильные пробирки;
- навески питательной среды (питательный огар) или пробирки с питательным МПА;
- электроплитка;
- термометр;
- спиртовка;
- спички;
- стеклянная палочка прямая и изогнутая;
- спирт;
- маркер;
- проба воды из водоема.

#### *Проведение анализа*

В чашку Петри пипеткой вносят 1 мл исследуемой питьевой воды\* а затем заливают пробу 10...12 мл питательного мясо-пептонного агара, имеющего температуру ~45 °С. Содержимое быстро перемешивают, осторожно наклоняя и

---

\* Если анализируют сточную воду, ее разбавляют стерильной водой в несколько раз.

вращая чашку по поверхности стола. Необходимо избегать образования пузырьков воздуха, не залитых участков дна чашки, попадания питательной среды на ее края и крышку. После этого чашку ставят на горизонтальную поверхность до застывания среды, а затем помещают в термостат и выдерживают при температуре 37,5 °С в течение 24 ч. За это время в чашках Петри вырастает от 30 до 300 колоний бактерий, которые видны при увеличении в 2...5 раз\*\* По полученным и приведенным в табл. 4.1 данным определяют степень загрязнения воды.

Таблица 4.1

Зависимость степени загрязнения воды от общего количества бактерий

Характеристика воды	Количество бактерий в 1 мл воды
Очень чистая	$a \cdot 1,0$
Чистая	$a \cdot 10^2$
Умеренно загрязненная	$a \cdot 10^3$
Загрязненная	$a \cdot 10^4$
Грязная	$a \cdot 10^5$
Очень грязная	$a \cdot 10^6$

Примечание:  $a$  имеет значение от 1 до 9.

#### 4.2. Определение количества бактерий группы кишечной палочки

При бактериологическом исследовании воды прежде всего ставится цель установить, заражена ли вода болезнетворными бактериями, возбудителями тифа, холеры, дизентерии. Поскольку определить наличие этих бактерий очень трудно, то обычно бактериологический анализ воды сводится к выявлению бактерий группы кишечной палочки, которые для человека не опасны, но присутствие их свидетельствует о загрязнении воды фекалиями и вызывает подозрение о наличии в воде болезнетворных микроорганизмов.

##### Сущность метода

Обнаружение бактерий группы кишечной палочки основано на их способности, в отличие от других бактерий, размножаясь, сбраживать сахар. Если питательная среда одержит молочный сахар, то он сбраживается до молочной кислоты, которая разрушает соединение фуксина сульфитом. В местах роста колоний бактерий *Coli* образуются окрашенные фуксином красные блестящие бугорки, по числу которых судят о количестве бактерий *Coli*.

Содержание в воде бактерий группы кишечной палочки характеризуют коли-титром, который численно равен объему воды в миллилитрах, содержащему одну кишечную палочку. Титр кишечной палочки является решающим показателем санитарного состояния воды. Если одна кишечная палочка содержится в 100 мл воды, то такая вода считается чистой, если в 10 мл – достаточно чистой, в 1 мл –

\*\* Вся применяемая посуда должна быть стерильной.



сомнительно чистой. При наличии одной кишечной палочки в 0,1 мл воду считают сильно загрязненной и непригодной для питья.

Для обеззараженной и осветленной воды, используемой для хозяйственно-питьевых целей, коли-титр в отдельном определении должен быть не ниже 300–330 мл. Загрязнение воды кишечными палочками характеризуют также *коли-индексом* - количеством кишечных палочек в 1 л воды. Согласно ГОСТ 2874-82, коли-индекс питьевой воды не должен превышать 3.

Для определения количества бактерий группы кишечной палочки существует два метода: бродильный и мембранных фильтров. Сущность последнего метода состоит в концентрировании бактерий из определенного объема исследуемой воды на мембранном фильтре и выращивании их при температуре  $37 \pm 0,5$  °С в среде Эндо. При этой температуре создаются оптимальные условия для выращивания бактерий.

### ***Материалы и оборудование***

- мембранные фильтры;
- водоструйный насос;
- проба исследуемой воды объемом не менее 500мл;
- среда Эндо;
- стерильные чашки Петри;
- стерильные пинцеты;
- спиртовка;
- пробирки с дистиллированной водой;
- микробиологическая петля;
- микроскоп;
- красители для окраски по Граму;
- предметное и покровное стекло.

### ***Проведение анализа***

В фильтровальный аппарат\* помещают стерильный мембранный ультрафильтр, взяв его обожженным пинцетом из сосуда, в котором проводилась стерилизация. Под мембранный ультрафильтр подкладывают простерилизованный кружок фильтровальной бумаги, смоченный стерильной водой.

Для фильтрования берут 300...500 мл воды. Если вода сточная, то ее предварительно разбавляют стерильной водой в 100...1000 раз.

После окончания фильтрования мембранный ультрафильтр снимают обожженным пинцетом с прибора и раскладывают на поверхности фуксинсульфитного агара (среда Эндо), помещенного в чашку Петри. Затем чашку помещают вверх дном в термостат при температуре 37 °С на 24 ч. Через 24

---

\* Фильтровальный аппарат стерилизуют кипячением в течение 30—40 мин, а ультрафильтры— в течение 10 мин.

ч подсчитывают колонии бактерий, окрашенные в красный цвет с металлическим блеском.

Затем рассчитывают коли-титр, мл

$$\text{Коли-титр} = \frac{V}{n}, \quad (42)$$

или коли-индекс:

$$\text{Коли-индекс} = \frac{n \cdot 1000}{V}. \quad (43)$$

Здесь  $n$  – количество бактерий группы кишечной палочки ( $n$ ), выращенных из исследуемого объема воды ( $V$ ). На основании результатов определения общего микробного числа и коли-индекса делают вывод о бактериологической безопасности воды.

## 5. БИОЛОГИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ВОДОЕМА ПО ГИДРОБИОНТАМ - ИНДИКАТОРАМ

### 5.1. Изучение биоразнообразия микроорганизмов природного водоема по морфологическим признакам прямым микроскопированием и определение индекса сапробности водоема по индикаторным организмам.

#### *Сущность метода*

Биоразнообразие микроорганизмов разных экологических групп водного биоценоза является важным условием устойчивости существования экосистемы водоема и интенсивности протекающих в нем процессов самоочищения. На изменения, происходящие в водоеме, в том числе антропогенное загрязнение, биоценоз чутко реагирует изменением интенсивности и характера своего метаболизма, изменением видового состава. Поэтому метод биоиндикации успешно используется для изучения состояния водных экосистем.

Наиболее разработанной системой оценки степени загрязнения вод по индикаторным организмам является система сапробности Кольквитца–Маарссона. В 1908 г. учеными Р.Кольквитцем и М.Маарссоном была разработана шкала оценки загрязненности водоемов по присутствию в них тех или иных организмов.

Под сапробностью понимается комплекс физиологических свойств организма, обуславливающий его способность развиваться в воде с тем или иным содержанием органических и токсических веществ, т.е. той или иной степенью загрязнения.

В классической системе сапробности показательные организмы разделяются на три группы:

- полисапробионты – организмы сильно загрязненных вод;
- мезосапробионты – организмы умеренно загрязненных вод (подразделяются на две подгруппы –  $\alpha$ - и  $\beta$ -);
- олигосапробионты – организмы слабозагрязненных вод.

Существует ряд методов представления результатов гидробиологического анализа, позволяющих оценить среднюю сапробность водного биоценоза. Одним из наиболее удобных методов является метод Пантле и Букка.

Данный метод позволяет оценивать сапробность водного объекта по фитопланктону, зоопланктону или бентосному сообществу по отдельности или в их совокупности.

Количественная оценка гидробионтов по методу Пантле и Букка учитывает относительную частоту встречаемости организмов –  $h$  и отношение отдельных видов к известным степеням системы сапробности –  $s$ . Обе эти величины входят в формулу сапробности зоны или водоема

$$S = \sum_{i=1}^N S_i h_i / \sum_{i=1}^N h_i, \quad (44)$$

где  $S_i$  – индикаторная значимость вида  $i$ , или расширенный сапробный индекс вида  $i$  (по В.Сладечку);  $h_i$  – относительная численность вида  $i$ ;  $N$  – численность видов-индикаторов.

Величина  $h$  находится из шестиступенчатой шкалы значений частоты и определяет относительное количество видов (Приложение 6, табл. 1).

Дополнительной характеристикой зон сапробности являются химико-биологические показатели качества воды водоема, которая дана в Приложении 7.

Индекс сапробности вычисляют с точностью до 0,01. Для ксеносапробной зоны он находится в пределах 0...0,50, олигосапробной – 0,51...1,5,  $\beta$ -мезосапробной – 1,51...2,50,  $\alpha$ -мезосапробной – 2,51...3,50, полисапробной – 3,51...4,00. Пример расчета индекса сапробности по методу Пантле и Букку представлен в приложении 8.

### ***Материалы и оборудование***

- микроскоп;
- предметные и покровные стекла;
- пипетка глазная;
- склянка пенициллиновая или бюкс;
- кисточка;
- колба мерная на 250 и на 500;
- фильтры мембранные №5 или 6;
- насос водоструйный;
- воронка;
- фильтр бумажный;
- дистиллированная вода.

### ***Отбор проб***

Отбор проб из водоема или водотока для анализа осуществляется непосредственно перед выполнением работы. Для исследования отбирают 0,5...1,0 л воды с помощью батометра или простым зачерпыванием пластиковой бутылкой на глубине не более 0,2...0,5 м от дна. После наполнения, часть воды сливается из бутылки так, чтобы над водой оставалось воздушное пространство и затем бутылка закрывается крышкой. При необходимости придонный слой воды слегка взмучивают (в случае бедных зоо- и фито- планктоном вод).

### ***Ход выполнения работы***

Отобранную пробу сгустить с помощью водоструйного насоса или путем фильтрования через бумажный фильтр «черная лента», вставленный в воронку и предварительно смоченный дистиллированной водой. Минимальный объем для сгущения составляет 250 мл. При фильтровании пробу необходимо постоянно взбалтывать. Затем фильтр с осевшим материалом помещают в бюкс или склянку, куда добавляют 5...10 мл фильтрата. Затем фильтр осторожно очищают от осадка мягкой кисточкой. Для микроскопирования отбирают каплю полученной суспензии микроорганизмов глазной пипеткой, предварительно хорошо

взбалтывая пробу, и помещают на чистое, сухое, обезжиренное предметное стекло. Сверху осторожно покрывают покровным стеклышком так, чтобы под ним по возможности не осталось пузырьков воздуха. Первые один – два раза микроскопирование проводят с целью ознакомления с микроорганизмами и определения их принадлежности к различным таксонометрическим группам. Хорошо видимый объект зарисовывается и идентифицируется по таблицам, рисункам и определителю. Выясняется принадлежность организма к тому или иному классу, виду.

Для определения индекса сапробности исследуемого водоема следует:

1. Провести микроскопирование сконцентрированной пробы с отбором капли не менее 3...5 раз;
2. Идентифицировать встречаемые виды, определить их принадлежность к зоне сапробности, выписать по определителю Сладечека В. класс, вид и название каждого определенного микроорганизма, а также расширенный индекс сапробности  $S_i$ ;
3. Фиксировать относительную частоту встречаемости каждого вида в микроскопируемых каплях, результаты подсчета заносить в таблицу 5.1.

Таблица 5.1

Название вида	Сапробность исследуемой зоны	S	h	Sh

4. Зарисовать каждый встречаемый вид.

5. Рассчитать индекс сапробности для исследуемого водоема отдельно по фито- и зоо- планктону по формуле, сравнить с существующими характеристиками, сделать вывод о принадлежности водоема к той или иной зоне сапробности.

## 6. ОЦЕНКА ТРОФИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ВОДОЕМА

### 6.1. Определение первичной продукции и деструкции органического вещества

Важной характеристикой биологической продуктивности водоема является первичная продукция и деструкция органического вещества.

Первичная продукция – это продукция органического вещества, образованного растительными клетками в процессе фотосинтеза. Первичная продукция становится органической пищей для животных организмов различных трофических уровней и, таким образом, определяет уровень биологической продуктивности водоема. Различают валовую  $P_{\text{вал}}$  и чистую  $P_{\text{чист}}$  первичную продукцию.

Валовая продукция – это общее количество органического вещества, образовавшееся в процессе фотосинтеза.

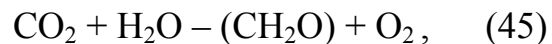
Чистая продукция учитывает дыхание гидробионтов, то есть деструкцию органического вещества.

Деструкция органического вещества характеризуется развитием процессов разложения органического вещества. Первичная продукция и деструкция является также важными характеристиками состояния водоема с точки зрения качества воды. Для оценки состояния водоема используют показатель индекса самоочищения. Индекс самоочищения – это отношение валовой первичной продукции к суммарной деструкции органического вещества.

Для определения первичной продукции фитопланктона широко используют метод измерения по изменению концентрации кислорода в воде (скляночный метод) и некоторые другие методы.

#### *Сущность метода*

Скляночный метод измерения первичной продукции и деструкции фитопланктона по разнице выделения кислорода в процессе фотосинтеза за определенный период, впервые был предложен Граном и Руудом и детально разработан Винбергом Г.Г. В основе метода лежит валовое уравнение фотосинтеза:



в котором количество потребленной углекислоты или количество выделившегося при фотосинтезе кислорода пропорционально количеству образованного органического вещества. При отсутствии света реакция идет в обратном направлении – процесс дыхания (деструкции), разложения органического вещества с потреблением кислорода и выделением углекислоты.

Для определения первичной продукции сначала отбирают пробу воды и определяют в ней содержание растворенного кислорода (и/или углекислого газа). Затем отбирают еще две пробы в светлые склянки, которые экспонируют на глубине отбора пробы в течение 8 часов и снова определяют концентрацию

растворенного кислорода (или углекислоты). Экспонировать склянки необходимо до или после полудня.

При определении деструкции вторую пробу воды отбирают не в светлые, а в темные склянки. Затем, как и при определении продукции склянки экспонируют на глубине отбора проб и определяют концентрацию растворенных в воде газов. Концентрацию растворенного кислорода определяют методом Винклера, концентрацию углекислоты нейтрализацией щелочью. Объем склянок составляет 100–500 мл в зависимости от продуктивности водоема: для эвтрофных водоемов используются склянки на 100 мл, для мезотрофных – на 250 мл, для олиготрофных - на 500 мл.

Первичная продукция (деструкция) будет пропорциональна разнице начальной и конечной концентрации кислорода в пробе после экспонирования.

Определение первичной продукции и деструкции обычно проводят для горизонтов различной освещенности. Горизонты измерения первичной продукции должны соответствовать глубинам, куда проникает 100, 75, 50, 10, и 1% поверхностной солнечной радиации. Глубина, на которую проникает 1% солнечной радиации, называется нижней границей фотического слоя и соответствует равновесию процессов производства и разложения биомассы. При этом первичная продукция равна деструкции. Граница фотического слоя соответствует утроенной глубине прозрачности по белому диску. Остальные горизонты фотического слоя определяют пропорционально глубине границы фотического слоя. Если фотический слой не превышает 5 м, то склянки погружают на глубины 0, 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 м.

### ***Оборудование и реактивы***

Склянки с притертыми пробками из светлого прозрачного стекла – 3 шт., 1 склянка с притертой пробкой из темного стекла, продукционные плотики или штатив, батометр, реактивы для фиксации растворенного кислорода и определения по методу Винклера (см. с. 31).

**Подготовка к отбору проб.** Продукционные склянки, батометр и посуда для анализа должны быть тщательно вымыты и высушены. Склянки необходимо расставить в порядке отбора проб с горизонтов. На каждый горизонт необходимо четыре склянки – одну для определения начальной концентрации  $O_2$ , две светлые и одна темная для экспонирования проб.

**Отбор, экспонирование и фиксация проб.** В точке отбора измеряют прозрачность воды и определяют глубину фотического слоя, умножая прозрачность на 3. После отбора проб батометром немедленно начинают заполнять продукционные склянки. Перед заполнением каждая склянка ополаскивается исследуемой водой. Склянки заполняются доверху, переливая часть пробы. Заполнять нужно осторожно, чтобы исключить попадание пузырьков воздуха. Попавшие в склянку пузырьки воздуха удаляют, оставив склянку открытой в течение одной минуты и постукивая по стенкам склянки. Следует избегать попадания прямых солнечных лучей. Пробу для определения начальной концентрации кислорода фиксируют, согласно методике. Остальные

склянки закрывают и ставят на экспонирование на соответствующий горизонт, предварительно хорошо закрепив. Следует отметить время начала экспозиции. После экспозиции фиксируют остальные пробы, и проводят необходимые определения и расчет растворенного кислорода.

**Расчет первичной продукции и деструкции.** Если  $V_c$  количество  $O_2$  в светлой склянке после экспонирования,  $V_T$  количество  $O_2$  в темной склянке после экспонирования,  $t$  – время экспозиции ч,  $V_{nc}$  - начальное содержание кислорода в склянке перед экспонированием, то первичную продукцию  $P$  (мг  $O_2$  л/ч) вычисляют по следующим формулам:

валовая продукция

$$P_{вал} = \frac{V_c - V_T}{t}; \quad (46)$$

чистая продукция

$$P_{чист} = \frac{V_c - V_{nc}}{t}; \quad (47)$$

деструкция

$$D = \frac{V_{nc} - V_T}{t}; \quad (48)$$

## 6.2. Оценка трофических свойств водоема с использованием высших водных растений-индикаторов

Высшие водные растения среди групп водных организмов-индикаторов являются наименее изученным звеном, хотя имеют ряд преимуществ. Они представляют собой видимый невооруженным глазом и поэтому весьма удобный для наблюдения объект, а также дают возможность при рекогносцировочном гидробиологическом осмотре водоемов в первом приближении визуально оценить их экологическое состояние. Макрофиты позволяют определить трофические свойства воды, а иногда и специфику ее химизма, что имеет существенное значение при биоиндикации вод.

### *Сущность метода*

В прибрежно-водной растительности выявляется исключительно легко поддающаяся учету доминантная флора. При этом подтипу водной растительности, представленной гидромезофитными, гидрофитными и гигрофитными видами, отводится принципиальная роль в оценке загрязнения водной среды. Подтипу же прибрежной растительности, представленной гигрофитными, мезофитными и ксеномезофитными видами, определяющее значение придается при оценке загрязнения донных отложений малорастворимыми токсическими веществами.

При ботанической индикации водоемов целесообразно учитывать следующие показатели: степень покрытия его макрофитами, флористическое разнообразие растений, отклонения в развитии и росте. При последующих лабораторных исследованиях, при необходимости, определяется ряд количественных



характеристик: величины фитомассы и продукции, высота и масса стебля, химический состав растений.

Большую роль при индикации вод играет наличие определенных видов-индикаторов. Но в выявлении таких растений имеется ряд трудностей вследствие того, что многие из них обладают широкими экологическими и географическими ареалами. Более того, в различных физико-географических условиях данные растения индикаторы могут встречаться в водоемах неодинакового трофического статуса и иметь соответственно различное индикаторное значение. Ограниченность сведений об экологии и физиологии большинства видов макрофитов также является лимитирующим фактором при выявлении индикаторных видов.

По общепринятой классификации стоячие водоемы (озера, естественные пруды и т.п.) делятся на, дистрофные, олиготрофные, мезотрофные, и эвтрофные (Приложение 9).

Количественная оценка уровня трофности водоема по присутствию макрофитов индикаторов учитывает относительную частоту их встречаемости и отношение отдельных видов к принятой системе трофности водоемов.

Для каждого уровня трофности водоемов принят номер: дистрофные – 1, олиготрофные – 2, мезотрофные – 3, эвтрофные – 4. Частоту встречаемости учитывают по девятибальной шестиступенчатой шкале со следующими обозначениями: 1 – очень редко, 2 – редко, 3 – нередко, 5 – часто, 7 – очень часто, 9 – масса.

Общий уровень трофности водоема вычисляется по формуле

$$T = \sum T_i a_i / \sum a_i, \quad (49)$$

где  $T_i$  – уровень трофности соответствующего вида-индикатора;

$a$  – частота встречаемости вида.

Пример расчета трофности водоема по высшим водным растениям дан в приложении 9.

### ***Ход выполнения работы***

- используя каталоги-определители, дать название каждому растению;
- оценить частоту встречаемости каждого вида;
- выделить доминантные и субдоминантные виды;
- выделить индикаторные виды присутствующие в водоеме;
- рассчитать общую трофность водоема по растениям-индикаторам;
- зарисовать и привести названия всех выявленных растений, указать индикаторные виды, охарактеризовать трофические свойства водоема.

## 7. ПОДСЧЕТ КЛЕТОК МИКРООРГАНИЗМОВ В СЧЕТНЫХ КАМЕРАХ

### *Сущность метода*

Метод прямого счета микробных клеток в счетных камерах – один из наиболее быстрых и достаточно точных. Данный метод успешно применяется для определения общего количества микроорганизмов, содержащихся во взвесьях. Однако счетные камеры Горяева, Нажотта могут быть использованы лишь для подсчета относительно крупных объектов – клеток водорослей, дрожжей грибов, микроскопируемых при увеличении микроскопа (окуляр 10–15×, объектив 8–40×).

### *Устройство и подготовка камеры Горяева*

Счетная камера Горяева представляет собой толстое предметное стекло с прямоугольным углублением в центре. Глубина камеры составляет  $0,1 \pm 0,005$  мм. На дне углубления нанесена сетка из 400 квадратов. Сторона сетки соответствует  $3 \pm 0,005$  мм, площадь одного малого квадрата соответствует  $1/400$  мм<sup>2</sup>, большого –  $1/25$  мм<sup>2</sup>.

Каплю с микроорганизмами помещают в центр камеры и накрывают специальным покровным стеклом, тщательно притирая его по краям камеры до появления ньютоновских колец. При этом толщина слоя жидкости в камере над сеткой соответствует 0,1 мм, а объем камеры 0,9 мм<sup>3</sup> (около 1 мм<sup>3</sup>). Каждый малый квадрат ограничивает объем жидкости в  $1/4000$  мм<sup>3</sup>, или  $1/4000000$  мл (1 мл = 1000 мм<sup>3</sup>).

Подсчет клеток в камере начинают через 3...5 мин. после заполнения ее, когда клетки осели и расположились в одной плоскости. Подсчет клеток ведут обычно в 10 больших либо в 20 малых квадратах, перемещая их по диагонали. Количество клеток в большом квадрате не должно превышать 20, а в малом – 10.

Для получения достоверного результата общее число подсчитанных клеток микроорганизмов должно быть не менее 600, поэтому из исследуемой взвеси микроорганизмов берут 3 – 4 пробы для монтажа камеры.

### *Материалы и оборудование*

- счетная камера Горяева;
- водоструйный насос;
- мембранные фильтры № 5,6;
- колба на 500мл с пробой природной воды;
- склянка на 20мл из-под пенициллина;
- пипетка глазная;
- микроскоп;
- кисточка колонковая;
- формалин 40%.

### *Проведение анализа*

Пробу природной воды содержащей водоросли, объемом 500 мл, сгущают с помощью водоструйного насоса на мембранном фильтре. В конце фильтрования

необходимо следить, чтобы над фильтром остался тонкий слой воды. Затем сгущенный осадок с фильтра осторожно переносят в склянку при помощи кисточки и доводят до объема 5мл дистиллированной водой. Консервируют препарат формалином или раствором Люголя.

После тщательного взбалтывания, каплю взвеси с водорослями из склянки наносят в центр счетной камеры пипеткой. Счетную камеру накрывают покровным стеклом, тщательно притирая его с краев до образования ньютоновских колец (цветных полос).

Подсчет клеток в камере начинают через три – пять минут после ее заполнения, когда клетки осели и расположились водной плоскости. Подсчет клеток ведут обычно в 10 больших либо в 20 малых квадратах, перемещая их по диагонали.

Для статистической достоверности в каждой пробе необходимо определить и просчитать все виды не менее трех раз с последующим вычислением среднего арифметического. Пересчет общей численности производится по формуле

$$N = \frac{n \cdot x \cdot v_1}{v_2 \cdot x \cdot w} \quad (50)$$

где  $N$  – число клеток в 1 мл воды,  $n$  – число клеток в камере объемом  $1\text{мм}^3$ ;

$v_1$  – объем концентрата пробы (5 мл);

$v_2$  – объем камеры в мл (0,001);

$w$  – объем профильтрованной воды (500 мл);

Отчет по работе должен содержать:

- расчет общей численности водорослей;
- расчет численности доминирующих видов;
- рисунки часто встречающихся видов.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Константинов А.С. Гидробиология. – М.: Высшая школа, 1979. – 490 с.
2. Макрушин А.В. Биологический анализ качества вод. – Л.: 1974. – 153 с.
3. Таубе П.Р., Баранова А.Г. Химия и микробиология воды. – М.: Высшая школа, 1983. – 280 с.
4. Радкевич В.А. Экология. – Минск: Высшая школа, 1998. – 159 с.
5. Бокрис Дж. Химия окружающей среды. – М.: Мир, 1984. – 480 с.
6. Карюхина Т.А., Чурбанова И.Н. Химия воды и микробиология. – М.: Стройиздат, 1983. – 215 с.
7. Павлович С.А. Медицинская микробиология. – М.: Высшая школа, 1998. – 173 с.
8. Руководство к лабораторным работам по химии и микробиологии воды/Составители: Л.З. Казанцева, О.Г. Дубровина; Под ред. Л.З. Казанцевой. Челябинск: ЧПИ, 1984. – 47 с.
9. Руководство к экологической практике: Учебное пособие / Н.И. Ходоровская, Я.Н. Лепп, А.В. Лагунов и др. – Челябинск: Изд. ЮУрГУ, 1999. – Ч.1. – 67 с.
10. Кульский Л.А. и др. Химия и микробиология воды: Практикум/ Л.А. Кульский, Т.М. Левченко, М.В. Петрова. – Киев: Вища школа, 1976, – 116 с.
11. Лейте В. Определение органических загрязнений питьевых, природных и сточных вод/Пер. с нем.; Под ред. Ю.Ю. Лурье. – М.: Химия, 1975. – 200 с.
12. Руководство по методам гидробиологического анализа поверхностных вод и донных отложений; Под ред. В.А. Абакумова. – Л.: Гидрометеиздат, 1983. – 240 с.
13. Определитель гидробионтов/ Под ред. В. Сладечека. – М.: СЭВ, 1977. – 227 с.

## ПРИЛОЖЕНИЯ

### Приложение 1

#### Приготовление шкалы цветности.

Раствор № 1. (основной раствор). Растворяют отдельно в дистиллированной воде 0,0875 г. двуххромовокислого калия и 2,0 г. сернокислого кобальта, смешивают оба раствора, прибавляют 1 мл серной кислоты (х.ч.,  $\rho=1.84$ ), доводят дистиллированной водой до 1 л. Этот раствор отвечает цветности 500°.

Раствор № 2. 1 мл серной кислоты доводят дистиллированной водой до 1 л. Смешением растворов 1 и 2 в соотношениях, приведенных в табл.1, получают шкалу цветности в градусах.

Таблица 1

Шкала цветности

Раствор № 1	0	1	2	5	8	10	12	14	16
Раствор № 2	100	99	98	95	92	90	88	86	84
Градусы цветности	0	5	10	25	40	50	60	70	80
Оптическая плотность									

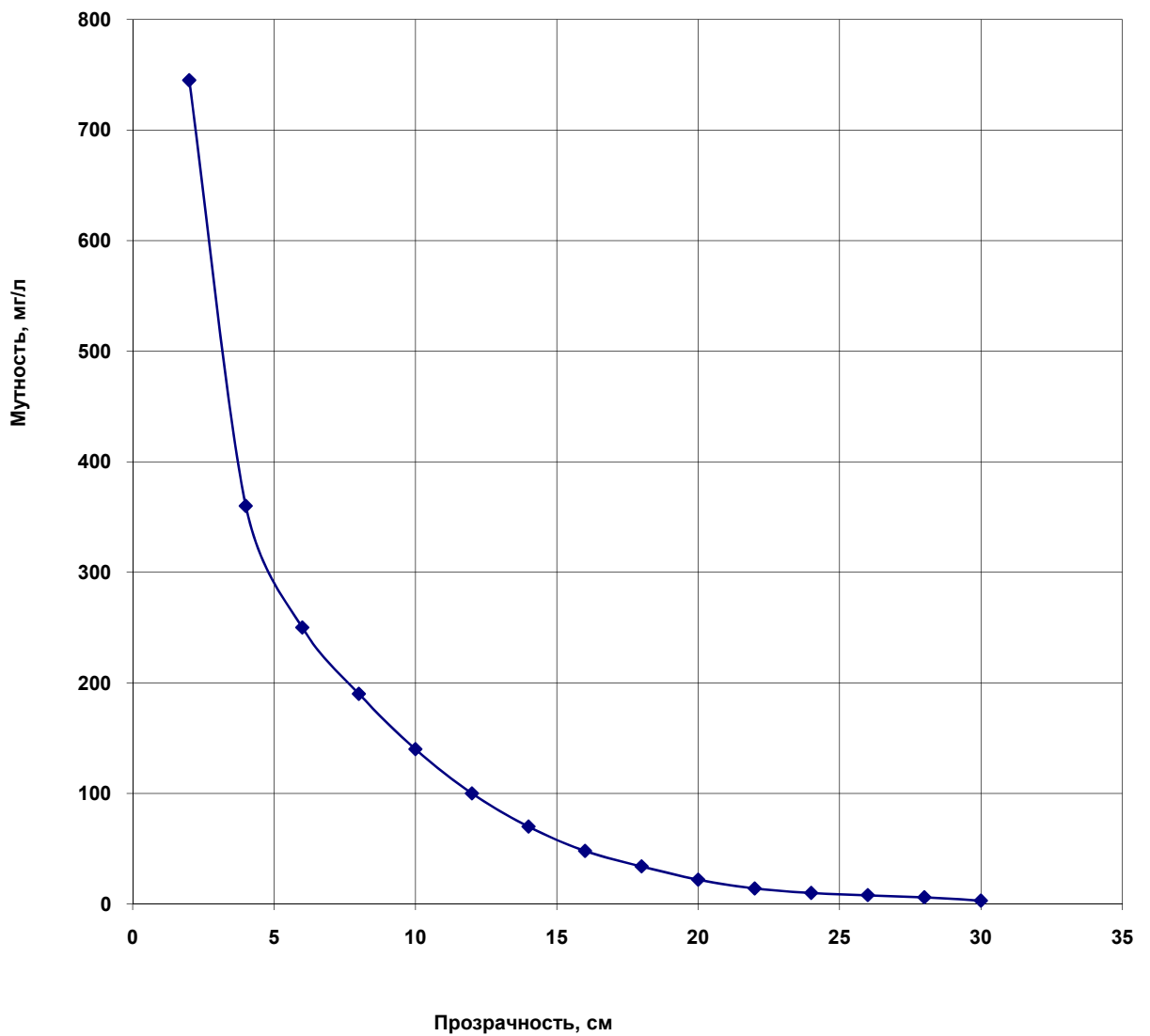
### Приложение 2

#### Приготовление шкалы мутности

Сначала готовят основную стандартную суспензию каолина. Для этого 25...30 г каолина, просеянного через сито с диаметром отверстий 0,1 мм, взбалтывают с 3...4 л дистиллированной воды и оставляют на 24 ч. Затем отбирают сифоном не осветлившуюся часть жидкости, выпаривают ее, а из полученного каолина готовят основную стандартную суспензию с концентрацией 100 мг/л. Ее консервируют раствором сулемы (1 мл на 1 л суспензии). Рабочие стандартные растворы суспензии с концентрациями 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 1; 1,5; 2; 5 мг/л готовят разбавлением основной суспензии дистиллированной водой. Все рабочие растворы консервируют сулемой, как и основную стандартную суспензию.

## ШКАЛА МУТНОСТИ

График перевода прозрачности в мутность



Зависимость для перевода прозрачности в мутность

$$y = \exp(6,5 - 0,16x),$$

где  $y$  – мутность;

$x$  – прозрачность.

## Приложение 3

### 1. Приготовление основного раствора метанитрофенола

При использовании нитрофенольной шкалы для определения рН основной раствор готовят, растворяя 0,3 г индикатора 100 мл воды.

### 2. Приготовление основного раствора универсального индикатора

0,04 г бромтимолового синего растирают с 6 мл 0,01 н NaOH, смывают смесь дистиллированной водой в колбу емкостью 100 мл, прибавляют 20 мл этилового спирта и дистиллированной воды до метки. Отдельно готовят раствор метилового красного, для этого растирают 0,01 г индикатора с 3,7 мл 0,01 н NaOH. Смесь смывают в колбу емкостью 50 мл, куда прибавляют 10 мл спирта и дистиллированной воды до метки. Оба раствора индикаторов сливают вместе.

Готовят буферные растворы с рН в пределах от 2,5 до 10 с интервалом 0,5.

В ампулы или пробирки наливают буферные растворы (по 5 или 10 мл, соответственно), добавляют 6...8 капель индикатора.

В случае приготовления нитрофенольной шкалы основной раствор индикатора предварительно разводят в 100 раз, а раствор в ампулах доливают до 7 мл раствором карбоната натрия.

Запаивают ампулы или заливают пробирки парафином и подписывают на емкости соответствующее значение рН.

При фотометрическом определении строят градуировочный график в координатах «рН – оптическая плотность».

## Приложение 4

### 1. Приготовление раствора серной кислоты

Разбавленный раствор. Прибавляют при перемешивании 1 объем 96%  $\text{H}_2\text{SO}_4$  к 2 объемам дистиллированной воды. К полученному раствору при температуре около 40 °С добавляют 0,01 н раствор перманганата до слабо-розовой окраски.

### 2. Приготовление раствора щавелевой кислоты

0,1 н и 0,001 н растворы. Основной раствор: растворяют 6,3030 г  $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  в разбавленной (1:15) серной кислоте и доводят объем при 20 °С до 1 л. Раствор сохраняют в темной бутылке, он устойчив около полугода. Рабочий раствор: доводят 100 мл 0,1 н основного раствора щавелевой кислоты до 1 л разбавленной (1:15) серной кислотой. Титрованный раствор можно так же приготовить растворением 0,6303 г  $(\text{COOH})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  в разбавленной (1:15) серной кислоте и доведением объема кислотой до 1 л.

### 3. Приготовление раствора перманганата калия

Приблизительно 0,1 н и 0,01 н растворы. Основной раствор: растворяют 3,2 г  $\text{KMnO}_4$  в одном литре дистиллированной воды. Раствор сохраняют в темной бутылке, изредка перемешивая; его можно применять не раньше чем через 2–3 недели после приготовления. Рабочий раствор: в мерную колбу емкостью 1 л отбирают 110 мл отстоявшегося основного раствора перманганата калия и разбавляют до метки дистиллированной водой. После нескольких дней

концентрацию раствора корректируют так, чтобы поправка к титру была равна 1,00. Для этого в колбу, в которой определяют окисляемость, помещают 100 мл дистиллированной воды, не содержащей органических веществ (можно использовать оттитрованную пробу после определения окисляемости), прибавляют 10 мл 0,01 н раствора щавелевой кислоты и 5 мл разбавленной серной кислоты (кислоту не прибавляют, когда используют оттитрованную пробу после определения окисляемости). Смесь нагревают до кипения и титруют раствором перманганата калия до слабо-розовой окраски. В соответствии с результатом титрования, если поправка к точно 0,01 н раствору отличается от 1,00 больше чем на  $\pm 0,05$ , раствор корректирует так, чтобы поправка была равна 1,00. Для этого раствор соответственно разбавляют или концентрируют. Титр раствора перманганата следует проверять по крайней мере 1 раз в неделю.

#### 4. Приготовление реактива Каро:

1 г параамидодиметиланилина растворяют в 300 мл соляной кислоты (плотность 1,19); к раствору прибавляют 100 мл 1% раствора хлорида железа (III) (раствор хранят в темном месте в склянке оранжевого стекла с притертой пробкой).

#### 5. Вода для разбавления

Для разбавления проб применяют дистиллированную воду (или бидистиллят), не содержащую окисляющих веществ.

### Приложение 5

Таблица 1

Соотношение значений относительного обилия и частоты встречаемости организмов

Частота	Количество экземпляров одного вида	Значение h
случайная находка	1	1
редко	2...3	2
нередко	4...10	3
часто	10...20	5
очень часто	20...40	7
масса	40...100	9

### Приложение 6

#### Характеристика зон сапробности

**Полисапробные зоны водоемов** в химическом отношении характеризуются бедностью кислорода, большим содержанием углекислоты, а также высокомолекулярных легко разлагающихся органических веществ – белков, углеводов. В этих водах интенсивно протекают процессы редукции и распада с образованием сернистого железа.

Население полисапробных вод обладает малым видовым разнообразием, при этом отдельные виды могут достигать большой численности. Аэробные (аэрофильные) микроорганизмы полностью отсутствуют. Особенно



распространены бесцветные жгутиконосцы и бактерии–сапрофиты. Число бактерий в 1 мл полисапробных вод может превышать 1 млн. экземпляров.

**β-Мезосапробные воды** характеризуются некоторым самоочищением. В них наряду с восстановительными процессами развиваются процессы окисления за счет кислорода, выделяемого хлорофиллсодержащими организмами. Поэтому, химический состав вод характеризуется наличием небольшим содержанием кислорода и наличием слабоокисленных азотистых соединений, таких как аммиак и аминокислоты. Большой численности достигают грибы и бактерии, содержание которых составляет несколько сотен тысяч в 1 мл.

Наиболее яркими представителями организмов являются: из цианобактерий (сине-зеленые водоросли) *Oszillatoria*, из простейших – *Clamydomonas* и *Euglena*.

В **α-мезосапробных водах** доминируют окислительные процессы. Характерным признаком является наличие всех трех форм минерализации белка. Это аммонийные соединения, нитраты и нитриты. Минерализация органики происходит за счет аэробного окисления. Видовое разнообразие *β-подзоны* гораздо выше, а численность и биомасса популяций видов снижается. Численность бактерий не превышает обычно 100 тыс. экземпляров в 1 мл воды. Более разнообразно представлены животные и растительные организмы. Наиболее характерными представителями водорослей являются диатомовые и разнообразные зеленые; из простейших встречаются инфузории, коловратки, корненожки и солнечники.

**Олигосапробные воды** – это чистые воды больших озер. Для них характерна высокая минерализация органики. Количество кислорода близко к нормальному насыщению. Число бактерий не превышает 1 тыс. экземпляров в 1 мл воды. Население этих вод наиболее разнообразно в видовом отношении, а численность и биомасса популяций видов снижается.

Среди чистых вод часто выделяют **ксеносапробные** и **катаробные**, для которых характерно почти полное отсутствие органических загрязнений, а растворенный кислород имеет очень высокие значения в летний и зимний период. Численность бактериального населения очень низка, а патогенная флора отсутствует.

Характерные химико-биологические показатели воды в соответствие с системой сапробности приведены в табл.1. Они являются дополнительными характеристиками, уточняющими классификацию и облегчающими сапробиологический анализ водоемов. Основной показатель сапробиологического анализа – это видовой состав индикаторных организмов, населяющих данный водоем.

Таблица 1

**Химико-биологические показатели качества воды водоемов ( система сапробности )**

Степень сапробности водоема	Знак зоны	БПКпол н мг О <sub>2</sub> /л	БПК5 мг О <sub>2</sub> /л	Растворенный кислород		Н <sub>2</sub> S мг/л	Окисляемость, мг/л	Азот аммонийный мг/л	Е-coli экз/мл	Сапрофитная микрофлора, экз/мл
				лето	зима					
Катаробная	к	—	—	9	13,0-14,0	0	1,0	—	—	<10
Ксеносапробная	х	>1,0	0,5-1,0	8,0	11,0-12,	0	2,0	0,1	<10	10-1000
Олигосапробная	о	>2,5	1,0-2,9	6,0-7,0	9,0-10,0	0	3,0	0,2-0,3	<40	1000
β-Мезосапробная	β	<5,0	3,0-3,9	4,0-5,0	4,0-5,0	0	4,0	0,4-1,0	=100	103-105
α-Мезосапробная	α	<10,0	4,0-10,0	2,0-3,0	0,0-5,0	0	5,0-15,0	1,1-3,0	=103	=105
Полисапробная	Р	<50,0	>10,0	0,1	0,1	0,1	15,0	3,0	2·10 <sup>4</sup>	=10 <sup>6</sup>

## Приложение 7

### Пример расчета индекса сапробности по фитопланктону и зоопланктону

Название вида	Сапробность исследуемой зоны	$S$	$h$	$Sh$
<b>I. Фитопланктон</b>				
Navicula radiosa	$\alpha-\beta$	1,6	2	3,2
Pinnulzria viridis	$\beta$	2,1	1	2,1
Sinedra acus	$\beta$	1,85	2	3,7
Pediastrum duplex	$\beta$	1,7	3	5,1
Scenedesmus quandricanda	$\beta$	2,0	7	14
<b>II. Зоопланктон</b>				
Daphnia longispina	$\beta$	2,00	7	14
Chidrus sphaericus	$\beta$	1,75	2	3,5
Bosmina longirostus	$\alpha-\beta$	1,55	3	4,65
Cyclops strenuus	$\beta-\alpha$	2,25	2	4,5
Cyclops furcifer	$\alpha$	1,2	2	2,4

$$S_{\phi} = \frac{28,1}{15} = 1,87;$$

$$S_z = \frac{29,05}{16} = 1,81.$$

Оба показателя индекса сапробности исследуемой зоны водоема входят в пределы  $\beta$ -мезосапробной зоны.

## Приложение 8

### Классификация водоемов по трофическому состоянию

По биологической классификации, основы которой были заложены А.Тинеманном и Е.Науманном пресноводные континентальные озера подразделяются на *дистрофные, олиготрофные, мезотрофные и эвтрофные*.

**Дистрофные** (недостаточно кормные) водоемы расположены, в основном, в заболоченной местности. Берега их низкие, болотистые, с редкой растительностью, часто сложены из сфагнома. Имеются торфянистые отложения на дне озера. Такие отложения исключают контакт воды с грунтом, поэтому вода слабо минерализована и бедна биогенами. Реакция среды кислая, вода сильно окрашена, прозрачность ее очень низкая. Планктон и бентос дистрофных озер очень бедны. Значительно разрежены прибрежные заросли тростника и хвоща. Исчезают рдесты, которые частично заменяются на заросли ежеголовника. Для дистрофных водоемов характерно наличие вдоль уреза воды различных видов осок и водно-болотной растительности, на дне – сфагнового мха. Часто встречается тростник обыкновенный (*Phragmites australis*), хвощ топяной (*Equisetum fluviatile*), кубышка желтая (*Nuphar lutea*), ежеголовник родственный (*Sparganium affine*).

**Олиготрофные** озера характеризуются слабым поступлением биогенов, поэтому в них мало фитопланктона, бактерио- и зоопланктона. Обычно они расположены на кристаллических породах и являются глубокими (свыше 30 метров). Гиполимнион, богатый кислородом, по объему превосходит эпилимнион. Прозрачность воды высокая, гуминовых веществ в воде очень мало, литораль развита слабо, донные отложения бедны органикой

Для озер **олиготрофного** типа характерно присутствие лобелии Дортмана, урути очередноцветковой. Степень их зарастания незначительна, растительные сообщества распространены весьма ограниченно. Фитоценозы, в основном разрежены. Развитие растений удовлетворительное, величина фитомассы невелика.

К **эвтрофным** (высококормным) водоемам относятся неглубокие (до 10–15 м) равнинные озера с обильным поступлением биогенов. Летом в массовом количестве развивается фитопланктон и соответственно обильны бактерио- и зоопланктон, зообентос. Грунты илистые, прозрачность воды низкая, цветность высокая. Литораль хорошо выражена, сильно зарастает макрофитами. Водная масса гиполимниона по сравнению с эпилимнионом мала, бедна кислородом. Водная толща прогревается до дна.

К водоемам **мезотрофного** типа относятся озера, занимающие промежуточное положение между олиго- и эвтрофными озерами.

Для водоема мезотрофного и эвтрофного типов характерна нейтральная или щелочная реакция водной среды, малая прозрачность. Показательно наличие рогоза узколистного (*Typha angustifolia*), стрелолиста плавающего (*Sagittaria natans*), элодеи канадской (*Elodea canadensis*). Расселение по водоему растений с плавающими листьями, таких видов как кувшинка чисто белая, кубышка желтая и малая, рдест плавающий часто может свидетельствовать о начавшемся процессе эвтрофирования. Массовое развитие рясок (маленькой и тройчатой) и многокоренника свидетельствует об избытке биогенных веществ, а их локальное интенсивное размножение может указывать на места поступления этих веществ в водоемы.

Таблица 1

Индикаторные виды макрофитов водоемов

Тип водоема			
Дистрофный	Олиготрофный	Мезотрофный	Эвтрофный
Сфагновые мхи <i>Sphagnum</i>	Лобелия Дортмана <i>Lobelia dortmanna</i>	Рдест сплюснутый <i>Protophyton compressus</i>	Повойничек (водяной перец) <i>Elatine hydropiper</i>
Белокрыльник болотный <i>Calla palustris</i>	Уруть очередноцветковая <i>Myriophyllum alterniflorum</i>	Ряска трехдольная <i>Lemna trisulca</i>	Шелковник неукореняющийся <i>Batrachium eradicatum</i>
Вахта трехлистная <i>Najas trifoliata</i>	Лютик простертый <i>Ranunculus reptans</i>	Уруть мутовчатая <i>Myriophyllum verticillatum</i>	Шелковник шенхелевидный <i>B. Foeniculaceum</i>

Продолжение таблицы 1.

Тип водоема			
Дистрофный	Олиготрофный	Мезотрофный	Эвтрофный
Сабельник болотный <i>Comarum palustre</i> Полушник колючеплодный <i>Isoetes echinospora</i> Кувшинка чисто-белая <i>Nymphaea alba</i>			
Ежеголовник родственный <i>Sparganium affine</i>	Полушник озерный <i>Isoetes lacustris</i>	Ряска малая <i>L.minor</i>	
Кубышка желтая <i>Nuphar lutea</i>	Рдест блестящий <i>Protopamogeton lusens</i>	Элодея канадская <i>Elodea canadensis</i>	
		Стрелолист плавающий <i>Sagittaria natans</i>	
		Осока пузырчатая <i>Carex vesicaria</i>	
		Кувшинка четырёхгранная <i>N.tetragona</i>	
		Частуха подорожниковая <i>Alisma plantagoaquatica</i>	
		Рдест маленький <i>P.candida</i>	
		Водокрас лягушачий <i>Hydrocharis morsusrae</i>	
		Рогоз узколистный <i>Typha angustifolia</i>	

Некоторые виды высших водных растений могут быть использованы для определения сапробности. К олигосапробам относятся рдест блестящий, уруть очередноцветковая, к олиго-в-мезосапробам – мох *Fontinalis antipyretica* L.

в-мезосапробами являются элодея канадская, ряски, рдесты плавающий и гребенчатый, кубышка желтая, роголистник погруженный, водяной лютик. Рдест гребенчатый больше указывает на а-мезосапробность.

**Пример расчета общей трофности водоема по водным растениям-индикатора**

Место отбора проб. Дата \_\_\_\_\_. Водоем – естественный пруд.

Виды растений-индикаторов	Соответствие уровню трофности водоема, $T_i$	Частота встречаемости, $a$	$T_i \times a$
<i>Nuphar lutea</i>	1	1	1
<i>Miriophyllum alterniflorum</i>	2	2	4
<i>Potamogeton lucens</i>	2	5	10
<i>Potamogeton compressus</i>	3	5	15
<i>Lemna trisulca</i>	3	7	21
<i>Elodea canadensis</i>	3	9	27
<i>Carex vesicaria</i>	3	3	9
		$\Sigma(3) = 31$	$\Sigma(4) = 87$

Общая суммарная трофность водоема  $\Sigma(3):\Sigma(4) = 2,8$  что соответствует переходному типу водоема между олиго- и мезотрофным состоянием.

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ.....	3
ВВЕДЕНИЕ.....	4
1. Общие правила работы при проведении гидробиологических исследований .....	6
1.1. Правила отбора проб воды.....	6
1.2. Консервирование и хранение проб .....	6
1.3. Эtiquетирование проб .....	8
1.4. Микроскопические исследования микроорганизмов .....	8
1.5. Правила и приемы пользования микроскопом .....	9
2. определение физических показателей качества воды .....	10
2.1. Определение температуры.....	10
2.2. Определение запаха и вкуса воды.....	10
2.3. Определение характера и интенсивности окраски.....	13
2.4. Определение содержания прозрачности, мутности и взвешенных веществ .....	14
2.4.1 Прозрачность .....	14
2.4.2. Мутность .....	15
2.4.3. Содержание взвешенных веществ .....	17
3. Определение химических показателей качества воды.....	19
3.1. Активная реакция воды (pH) .....	19
3.2. Кислотность воды .....	20
3.3. Щелочность воды.....	22
3.4. Жесткость воды.....	24
3.4.1.Общая жесткость воды .....	24
3.4.2. Кальциевая жесткость воды .....	25
3.4.3. Магниевая жесткость воды .....	26
3.5. Окисляемость воды.....	26
3.5.1. Перманганатный метод (метод Кубеля) .....	27
3.6. Растворенные газы (углекислый газ, сероводород, кислород) .....	29
3.6.1. Углекислый газ .....	29
3.6.2. Сероводород.....	30
3.6.3. Растворенный кислород (метод Винклера) .....	31
3.7. Определение азотсодержащих веществ .....	33
3.7.1. Определение содержания иона аммония .....	34
3.7.2. Определение содержания нитритов .....	36
3.7.3. Определение содержания нитратов.....	37
3.8. Содержание общего железа, ионов железа (II, III).....	39
3.8.1. Титриметрический бихроматный метод .....	39
3.8.2. Определение ортофенантролином.....	40
3.9. Содержание фосфатов .....	41
3.10. Содержание хлорид-ионов.....	42
3.11. Определение содержания в воде сульфат-ионов.....	44
4. Санитарно-бактериологический анализ воды .....	46
4.1. Определение общего количества бактерий в воде .....	46

4.2. Определение количества бактерий группы кишечной палочки .....	47
5. Биологический контроль водоема по гидробионтам - индикаторам .....	50
5.1. Изучение биоразнообразия микроорганизмов природного водоема по морфологическим признакам прямым микроскопированием и определение индекса сапробности водоема по индикаторным организмам. ....	50
6. Оценка трофических свойств водоема.....	53
6.1. Определение первичной продукции и деструкции органического вещества .....	53
6.2. Оценка трофических свойств водоема с использованием высших водных растений-индикаторов.....	55
7. Подсчет клеток микроорганизмов в счетных камерах .....	57
Библиографический список.....	59
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	60
Приложение 1 .....	60
Приложение 2 .....	60
Приложение 3 .....	62
Приложение 4.....	62
Приложение 5.....	63
Приложение 6.....	63
Приложение 7 .....	66
Приложение 8.....	66
Приложение 9.....	69