

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«ВОЛГОГРАДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт естественных наук
Кафедра экологии и природопользования

Е. А. Иванцова, Н. В. Герман, А. А. Тихонова

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

*Учебно-методическое пособие
для бакалавров и магистрантов направлений подготовки
«Экология и природопользование», «Техносферная безопасность»*

Волгоград 2018

УДК 502.175(075.8)
ББК 20.18я73
И23

Рекомендовано к изданию Учебно-методическим советом
института естественных наук ВолГУ (протокол № 10 от 17.09.2018 г.)

Печатается по решению редакционно-издательского совета
Волгоградского государственного университета

Рецензенты:

д-р техн. наук, проф. кафедры экологии и экономики природопользования
Волгоградского государственного аграрного университета *В. Ф. Лобойко*

д-р биол. наук, проф. кафедры промышленной экологии
и безопасности жизнедеятельности

Волгоградского государственного технического университета

Г. А. Севрюкова

Иванцова, Е. А.

И23

Методы оценки загрязнений окружающей среды [Текст] : учеб.-метод. пособие для бакалавров и магистрантов направлений подготовки «Экология и природопользование», «Техносферная безопасность» / Е. А. Иванцова, Н. В. Герман, А. А. Тихонова; Федер. гос. авт. образоват. учреждение высш. образования «Волгогр. гос. ун-т», Ин-т естеств. наук, Каф. экологии и природопользования. – Волгоград : Изд-во ВолГУ, 2018. – 86 с.

ISBN 978-5-9669-1835-4

Настоящее пособие содержит теоретический материал, описание методик лабораторных работ, а также закрепляющие задания для самостоятельной работы. Пособие предназначено для студентов II–IV курсов бакалавриата, I–II курсов магистратуры по направлениям подготовки «Экология и природопользование», «Техносферная безопасность», для преподавателей вузов в качестве методических материалов.

УДК 502.175(075.8)
ББК 20.18я73

ISBN 978-5-9669-1835-4



- © Иванцова Е.А., Герман Н.В., Тихонова А.А., 2018
- © ФГАОУ ВО «Волгоградский государственный университет», 2018
- © Оформление. Издательство Волгоградского государственного университета, 2018

ПРЕДИСЛОВИЕ

Одной из эффективных форм работы по изучению экологии является исследовательская деятельность, в ходе которой происходит непосредственное общение обучающегося с природой, приобретаются навыки научного эксперимента, развивается наблюдательность, пробуждается интерес к изучению конкретных экологических вопросов.

Ориентированность высшего образования на экологическое воспитание студентов в природной обстановке позволяет им активно общаться к исследовательской работе по изучению природных сред и экосистем своего родного края, побуждает к участию в научных студенческих конференциях, летних практиках, экологических экспедициях, обмениваться результатами исследований через современные телекоммуникационные средства.

Эффективность исследовательской работы по экологии может быть значительно выше, если она будет проводится по единым или скоординированным программам и методикам. Это основная цель данного учебного пособия. В данном пособии предложена концепция экологического знания, описаны методические подходы по организации и проведению экологического мониторинга окружающей среды.

Материал учебного пособия представляет собой перечень лабораторных методик для исследовательской деятельности студентов по изучению экологического состояния природных сред и экосистем. Методы мониторинга биоты, почвы, воды, воздушной среды и обработки результатов экологического исследования.

ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ В ЛАБОРАТОРИИ

1. Соблюдайте правила работы в соответствии с общим инструктажем по технике безопасности в лаборатории;
2. Осторожно обращайтесь со стеклянной посудой, используемой в работе;
3. Особую внимательность проявляйте при работе с водяной баней, находящейся на электроплите;
4. Осторожно обращайтесь с горящими спиртовками. Особую осторожность необходимо проявлять во время обжига водопроводного крана при отборе пробы воды.
5. Работу выполняйте только на специально оборудованном бактериологическом столе.

6. Осторожно обращайтесь с электронагревательными приборами (электрической плиткой) и водяной баней.

РАЗДЕЛ № 1. МОНИТОРИНГ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА

РАБОТА 1. ПРИНЦИПЫ СТЕРИЛИЗАЦИИ ОБЪЕКТОВ, ЛАБОРАТОРНОЙ ПОСУДЫ И ИНСТРУМЕНТОВ

Цель работы: познакомиться с принципами стерилизации лабораторной посуды и инструментов.

Необходимое оборудование: 1) пробирки; 2) пипетки; 3) плотная бумага; 4) вата; 5) марля; 6) нитки; 7) ножницы.

Теоретическая часть. Стерилизация (от латинского слова *sterilis* – бесплодный) – обеспложивание, освобождение от всего живого. Стерильность может быть достигнута при помощи физических и химических методов. Стерилизация, в отличие от дезинфекции, предусматривает уничтожение в стерилизуемом объекте всех вегетативных и споровых, патогенных и непатогенных микроорганизмов. Стерилизацию производят различными способами: паром, сухим горячим воздухом, кипячением, фильтрацией и т. д. Выбор того или иного способа стерилизации определяется качеством и свойствами микрофлоры стерилизуемого объекта.

Подготовка и стерилизация лабораторного оборудования. Перед стерилизацией лабораторную посуду моют и сушат. Новая посуда часто имеет щелочную реакцию. Поэтому новое стекло заливают 1–2 % соляной кислотой и кипятят в ней в течение 2 часов или выдерживают в автоклаве при +120 °С в течение 40 мин. Посуда при такой обработке частично теряет щелочность и питательные среды, приготовленные в ней, не изменяют свою реакцию. Бывшую в употреблении посуду моют теплой водой с помощью ерша или щетки, после чего ополаскивают 2–3 раза дистиллированной водой и сушат. Лабораторная посуда после обработки должна быть прозрачной, нейтральной реакции, хорошо обеззаражена, высушена, без следов дезинфицирующих растворов и сильно действующих веществ (кислот, щелочей).

Пробирки, флаконы, бутылки, матрацы и колбы закрывают ватно-марлевыми пробками. Поверх пробок на каждый сосуд (кроме пробирок) надевают бумажные колпачки. Ватно-марлевые пробки готовят следующим образом: на стол кладут продолговатую четырехугольную пластинку ваты соответствующей величины, загибают внутрь все четыре края так, чтобы получилась ленточка, по ширине равная длине пробки, и скатывают валик по диаметру пробирки или флакона. Валик должен быть достаточно плот-

ным и не сминаться при нажатии. Пробку обертывают кусочком марли в один слой, края марли связывают над пробкой ниткой (рис. 1).

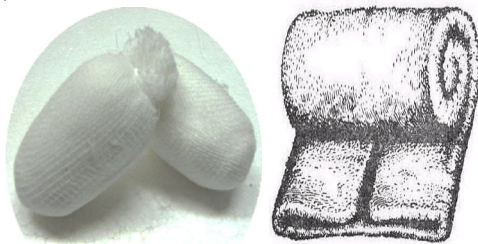


Рис. 1. Приготовление ватно-марлевой пробки

Резиновые, корковые и стеклянные пробки стерилизуют в отдельном пакете, привязанном к горлышку посуды. Чашки Петри стерилизуют завернутыми в бумагу по 1–10 штук. Пастеровские пипетки по 3–15 шт. заворачивают в оберточную бумагу. В верхнюю часть каждой пипетки вкладывают кусочек ваты, предупреждающий попадание материала в окружающую среду. При завертывании пипеток нужно соблюдать большую осторожность, чтобы не обломать запаянные концы капилляров. Во время работы пипетки из пакета вынимают за верхний конец. В верхнюю часть градуированных пипеток, как и в пастеровские пипетки, вставляют предохранительную вату и затем заворачивают в плотную бумагу, нарезанную предварительно полосками шириной 2–2,5 см и длиной 50–70 см. Полоску кладут на стол, левый конец ее загибают и завертывают им кончик пипетки, затем, вращая пипетку, наворачивают на нее ленту бумаги. Для того чтобы бумага не разворачивалась, противоположный конец ее закручивают или приклеивают. На бумаге надписывают объем завернутой пипетки. При наличии пеналов градуированные пипетки стерилизуют в них.

Лабораторную посуду стерилизуют:

а) сухим жаром при температуре +180 °С и +160 °С соответственно 1 ч и 150 минут;

б) в автоклаве при давлении 1,5 атм. в течение 60 минут, для уничтожения споровой микрофлоры – 90 минут при 2 атм;

Стерилизация металлических инструментов. Металлические инструменты (ножницы, скальпели, пинцеты и пр.) стерилизуют в 2 % растворе гидрокарбоната натрия, который предупреждает появление ржавчины и потерю остроты. Лезвия скальпелей и ножниц перед погружением в раствор рекомендуется обертывать ватой.

Стерилизация кипячением. Стерилизацию кипячением производят в стерилизаторе. В стерилизатор наливают дистиллированную воду, так как водопроводная образует накипь. (Стеклянные предметы погружают в холодную, металлические предметы – в горячую воду с добавлением гидрокарбоната натрия). Стерилизуемые предметы кипятят на слабом огне 30–60 минут. Началом стерилизации считается момент закипания воды в стерилизаторе. По окончании кипячения инструменты берут стерильным пинцетом, который кипятят вместе с остальными предметами.

Стерилизация сухим жаром. Стерилизация сухим жаром производится в печи Пастера. Подготовленный к стерилизации материал кладут на полки так, чтобы он не соприкасался со стенками. Шкаф закрывают и после этого включают обогрев. Продолжительность стерилизации при температуре +150 °С 2 ч, при +165 °С – 1 ч, при +180 °С – 40 мин, при +200 °С – 10–15 мин (при 170 °С бумага и вата желтеют, а при более высокой температуре обугливаются).

Началом стерилизации считается тот момент, когда температура в печи достигнет нужной высоты. По окончании срока стерилизации печь выключают, но дверцы шкафа не открывают до полного охлаждения, так как холодный воздух, поступающий внутрь шкафа, может вызвать образование трещин на горячей посуде.

Стерилизация паром под давлением. Стерилизацию паром под давлением производят в автоклаве. Автоклав состоит из двух котлов, вставленных один в другой, кожуха и крышки. Наружный котел называют водопаровой камерой, внутренний стерилизационной камерой. В водопаровом котле происходит образование пара. Во внутренний котел помещают стерилизуемый материал. В верхней части стерилизационного котла имеются небольшие отверстия, через которые проходит пар из водопаровой камеры. Крышка автоклава герметически привинчивается к кожуху. Кроме перечисленных основных частей, автоклав имеет ряд деталей, регулирующих его работу: манометр, водомерное стекло, предохранительный клапан, выпускной, воздушный и конденсационный краны. Манометр служит для определения давления, создающегося в стерилизационной камере. Нормальное атмосферное давление (760 мм рт. ст.) принимается за нуль, поэтому в неработающем автоклаве стрелка манометра стоит на нуле. Между показаниями манометра и температурой имеется определенная зависимость (табл. 1).

Стерилизация насыщенным паром под давлением – наиболее быстрый и надежный способ термической стерилизации, при котором гибнут самые устойчивые споры. Таким образом стерилизуют большинство питательных сред. Этот способ основан на прогревании субстрата насы-

щенным паром под давлением выше атмосферного. Обработку насыщенным паром выполняют в герметично закрывающемся толстостенном котел-автоклаве. Автоклав представляет собой металлический двухстенный аппарат (рис. 2), внутренняя часть которого служит стерилизационной камерой (1), куда помещают стерилизуемый материал.

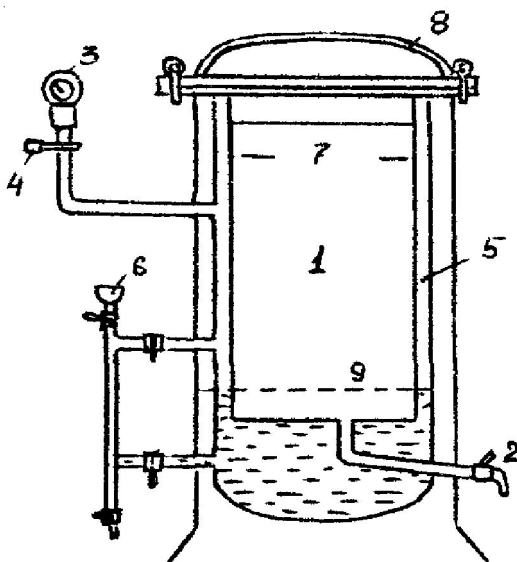


Рис. 2. Схема автоклава:

1 – стерилизационная камера; 2 – кран для выхода воздуха; 3 – манометр; 4 – предохранительный клапан; 5 – водопаровая камера; 6 – воронка для заполнения автоклава водой; 7 – отверстие для поступления пара в стерилизационную камеру; 8 – крышка автоклава; 9 – подставка для стерилизуемого материала

Стерилизационная камера снабжена краном (2) для выхода воздуха, манометром (3) для определения давления пара и предохранительным клапаном (4) для выхода пара при повышении давления сверх необходимого. Водонапорная камера (5) через воронку (6) заполняется дистиллированной водой до метки на водомерной трубке. Манометр показывает, на сколько давление пара внутри котла выше атмосферного. Показателям манометра в физических атмосферах соответствует определенная температура. Каждый микроорганизм имеет свой температурный оптимум. Споры микроорганизмов более терморезистентны и являются лимитирующим фактором, определяющим температурный режим стерилизации.

Соотношения показаний манометра и температуры кипения вод

Показания манометра, атм.	t кипения воды, °С	Показания манометра, атм.	t кипения воды, °С
0,0	100°	0,8	117°
0,2	105°	0,9	119°
0,4	110°	1,0	121°
0,5	112°	1,5	127°
0,6	114°	2,0	134°
0,7	116°		

Правила работы с автоклавом. Перед началом работы осматривают автоклав и контрольно-измерительную аппаратуру. В автоклавах с автоматическим регулированием пара на электровакуумном манометре водопаровой камеры стрелки устанавливают в соответствии с режимом стерилизации: нижнюю стрелку ставят на 0,1 атм. ниже, верхнюю – на 0,1 атм. выше рабочего давления, водопаровую камеру заполняют водой до верхней отметки мерного стекла.

В период заполнения водой вентиль на трубе, по которой пар поступает в камеру, держат открытым для свободного выхода воздуха из котла. Стерилизационную камеру автоклава загружают стерилизуемым материалом. После этого крышку (или дверцу) автоклава закрывают, плотно закрепляя центральным затвором или болтами; чтобы избежать перекоса, болты завинчивают крест-накрест (по диаметру). Затем включают источник подогрева (электрический ток, пар), закрывая вентиль на трубе, соединяющей источник пара со стерилизационной камерой.

С началом парообразования и создания давления в водопаровой камере производят продувку (удаление воздуха из стерилизационного котла). Способ удаления воздуха определяется конструкцией автоклава. Вначале воздух выходит отдельными порциями, затем появляется ровная непрерывная струя пара, указывающая, что из стерилизационной камеры воздух полностью вытеснен. После удаления воздуха кран закрывают, и в стерилизационной камере начинается постепенное повышение давления.

Началом стерилизации считается тот момент, когда стрелка манометра показывает заданное давление. После этого интенсивность подогрева уменьшают, чтобы давление в автоклаве в течение нужного времени оставалось на одном уровне. По окончании времени стерилизации подогревание прекращают. Закрывают вентиль в трубопроводе, подающем пар в стерилизационную камеру, и открывают вентиль на конденсационной (нисходящей) трубе для снижения давления пара в камере. Пос-

ле падения стрелки манометра до нуля медленно ослабляют прижимные приспособления и открывают крышку автоклава.

Температура и продолжительность стерилизации определяются качеством стерилизуемого материала и свойствами тех микроорганизмов, которыми он заражен. Контроль температуры в стерилизационной камере осуществляется периодически с помощью бактериологических тестов. Биотесты изготавливаются бактериологическими лабораториями ЦСЭН. В случае непрохождения данных тестов производят проверку технического состояния автоклава.

Асбестовые фильтры (фильтры Зейтца) представляют собой асбестовые пластинки толщиной 3–5 мм и диаметром 35 и 140 мм для фильтрации малых и больших объемов жидкости. В нашей стране асбестовые фильтры, изготавливают двух марок: «Ф» (фильтрующие), задерживающие взвешенные частицы, но пропускающие бактерии, и «СФ» (стерилизующие), более плотные, задерживающие бактерии. Перед употреблением асбестовые фильтры монтируют в фильтровальные аппараты и вместе с ними стерилизуют в автоклаве. Асбестовые фильтры используются однократно.

Мембранные ультрафильтры изготавливаются из нитроцеллюлозы и представляют собой диски белого цвета диаметром 35 мм и толщиной 0,1 мм. Непосредственно перед употреблением мембранные фильтры стерилизуют кипячением. Фильтры помещают в дистиллированную воду, подогревают до температуры +50...+60 °С, чтобы предупредить их скручивание, кипятят на слабом огне в течение 30 минут, меняя 2–3 раза воду. Простерилизованные фильтры во избежание их повреждения вынимают из стерилизатора фламбиранным и остуженным пинцетом с гладкими кончиками.

Для фильтрации жидкостей бактериальные фильтры монтируют в специальные фильтровальные приборы, в частности, в фильтр Зейтца. Он состоит из 2-х частей: верхней, имеющей форму цилиндра или воронки, и нижней – опорной части аппарата, с так называемым фильтровальным столиком из металлической сетки или чистой керамической пластинки, на которую помещают мембранный или асбестовый фильтр. Опорная часть аппарата имеет форму воронки, суживающаяся часть которой находится в резиновой пробке горлышка колбы Бунзена.

В рабочем состоянии верхнюю часть прибора фиксируют на нижней с помощью винтов. Перед началом фильтрации места соединения различных частей установки для создания герметичности заливают парафином. Отводную трубку колбы присоединяют толстостенной резиновой трубкой к водоструйному, масляному или велосипедному насосу. После этого в цилиндр или воронку аппарата наливают фильтруемую жидкость и включают насос, созда-

ющий вакуум в приемном сосуде. В результате образующейся разности давлений фильтруемая жидкость проходит через поры фильтра в приемник. Микроорганизмы остаются на поверхности фильтра.

Ход работы:

1. Приготовить ватно-марлевую пробку для стерилизации флакона или пробирки.
2. Подготовить к стерилизации лабораторную посуду. Запробковать и завернуть в бумажную полоску пипетки.

Контрольные вопросы

1. Преимущества и недостатки термических методов стерилизации.
2. Процессы стерилизации и пастеризации. Достоинства и недостатки методов.
3. Особенности и применимость дробного метода стерилизации.
4. Обработка паром под давлением. Устройство автоклава.
5. Указать последовательность операций при использовании автоклава.
6. В чем особенность дробного метода стерилизации?
7. С какой целью используют лабораторные сухожаровые шкафы?
8. В каких случаях применяют стерилизацию фильтрованием?
9. Что такое пастеризация и для чего она используется?

РАБОТА № 2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ CO_2 В ВОЗДУХЕ

Цель работы: экспериментально определить концентрацию диоксида углерода в атмосферном воздухе и воздухе учебной аудитории и сопоставить с величинами ПДК. Пользуясь экспериментальными данными, рассчитать показатели воздухообмена для исследуемого помещения.

Необходимое оборудование: 1) Карбонат натрия х.ч.; 2) 1 %-ый раствор фенолфталеина; 3) 25 %-ый раствор гидроксида аммония; 4) Вода дистиллированная; 5) Шприц Жанне; 6) Шприц на 20 мл; 7) Пробирка с резиновой пробкой; 8) Пипетка градуированная на 2 мл; 9) Мерный цилиндр.

Теоретическая часть. Диоксид углерода – газ без цвета и запаха. Увеличение его содержания до 3 % приводит к нарушениям функции дыхания (одышка), появлению головной боли и снижению работоспособности. При содержании диоксида углерода в воздухе 4–5 % отмечаются покраснение лица, головная боль, шум в ушах, повышение кровяного давления, сердцебиение, возбужденное состояние. При содержании 8–10 % наблюдается быстрая потеря сознания и наступает смерть. Концентрация

диоксида углерода в воздухе жилых и общественных зданий даже при отсутствии в них вентиляции редко превышает 1 %.

Считается, что ощущение дискомфорта обычно связано не только с увеличением содержания диоксида углерода свыше 0,1 %, но и с изменением физических свойств воздуха при скоплении людей в помещениях. При этом повышается влажность и температура, изменяется ионный состав воздуха, главным образом за счет увеличения положительных ионов и др.

Из всех показателей, связанных с ухудшением свойств воздуха, диоксид углерода наиболее доступен простому определению. Поэтому указанная концентрация (0,1 %) издавна принята в гигиенической практике как предельно допустимая величина, интегрально отражающая химический состав и физические свойства воздуха в жилых и общественных помещениях. Таким образом, диоксид углерода является косвенным гигиеническим показателем, по которому оценивают степень чистоты воздуха.

Существуют нормы ПДК диоксида углерода в космических кораблях, подводных лодках (не более 0,5–1 %), в бомбо- и газозубежищах (не более 2 %). По содержанию диоксида углерода производится расчет вентиляции в жилых и общественных зданиях. Содержание диоксида углерода в воздухе лечебных учреждений должно составлять не более 0,07 %, в воздухе жилых и общественных зданий – 0,1 %.

Исследованиями М.П. Бресткина и ряда других авторов установлено, что повышение концентрации CO_2 до 2–2,5 % не вызывает заметных отклонений в самочувствии человека, его трудоспособности. Концентрации CO_2 до 4 % вызывают повышение интенсивности дыхания, сердечной деятельности, снижение трудоспособности. Концентрации CO_2 до 5 % сопровождаются одышкой, усилением сердечной деятельности, снижением трудоспособности, а 6 % – способствуют снижению умственной деятельности, возникновению головной боли, утомлению, 7 % – может вызвать неспособность контролировать свои действия, потерю сознания и даже смерть, 10 % – вызывает быструю, а 15–20 % мгновенную смерть из-за паралича дыхания.

Для определения концентрации CO_2 в воздухе разработано несколько методов, среди которых метод Субботина-Нагорского с гидроокисью бария, методы Реберга-Винокурова, Калмыкова, интерферометрический. Общими недостатками известных методов являются:

- статистическая неустойчивость метода единичных локальных измерений на местности в контрольных точках как таковых;

- неопределенность выбора самих контрольных точек забора проб и зависимость результата измерений от случайных завихрений атмосферы в точках забора.

В санитарной практике наиболее широко используется портативный экспресс-метод Лунге-Цеккендорфа в модификации Д.В. Прохорова.

Принцип метода основан на пропускании исследуемого воздуха через титрованный раствор углекислого натрия (или аммиака) в присутствии фенолфталеина. При этом происходит реакция $\text{Na}_2\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2 = 2\text{NaHCO}_3$.

Раствор фенолфталеина, который имеет розовую окраску в щелочной среде, после связывания CO_2 обесцвечивается (кислая среда).

Разведением 0,05 г химически чистого Na_2CO_3 в 100 мл дистиллированной воды готовят исходный раствор, к которому прибавляют 0,1 % раствор фенолфталеина. Перед анализом готовят рабочий раствор разведением 2 мл исходного раствора до 20 мл дистиллированной водой, получая раствор с концентрацией соды 0,005 %.

Раствор переносят в склянку Дрекслея по Лунге-Цеккендорфу (рис. 3) или в шприц Жанне по Прохорову.

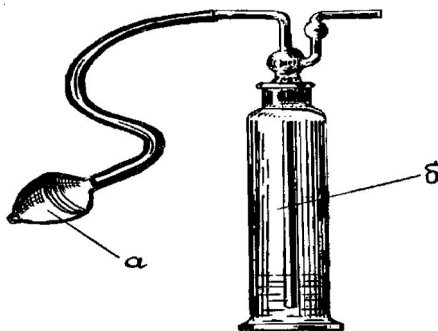


Рис. 3. Прибор для определения концентрации CO_2 по Лунге-Цеккендорфу (*a* – резиновая груша для продувки воздуха с клапаном; *b* – склянка Дрекслея с раствором кальцинированной соды и фенолфталеина)

В первом случае к длинной трубке склянки Дрекслея с утонченным носиком присоединяют резиновую грушу с клапаном или небольшим отверстием. Медленно сжимая и быстро отпуская грушу, продувают через раствор исследуемый воздух. После каждой продувки склянку встряхивают для полного поглощения CO_2 из порции воздуха.

Во втором случае (по Прохорову) в шприц, наполненный 20 мл рабочего раствора соды с фенолфталеином, держа его вертикально, набирают порцию исследуемого воздуха. Затем энергичным встряхиванием (7–8 раз) воздух приводят в контакт с поглотителем, после чего воздух выталкивается и

вместо него набирается одна за другой порции исследуемого воздуха до полного обесцвечивания раствора в шприце. Считают количество объемов (порций) воздуха, пошедших на обесцвечивание раствора. Анализ воздуха проводят в помещении и за пределами помещения (атмосферный воздух).

Результат рассчитывают по обратной пропорции на основании сопоставления количества израсходованных объемов (порций) груш или шприцев и концентрации CO_2 в атмосферном воздухе (0,04 %) и в конкретном исследуемом помещении, где определяется концентрация CO_2 . Например, в помещении израсходовано 10 объемов груш, или шприцев, на улице – 50 объемов. Отсюда, концентрация CO_2 в помещении = $(0,04 \times 50) : 10 = 0,2 \%$.

Предельно допустимая концентрация (ПДК) CO_2 в жилых помещениях разного назначения установлена в пределах 0,07–0,1 %, в производственных помещениях, где CO_2 накапливается от технологического процесса, до 1–1,5 %.

Ход работы: I метод. В шприц Жанне с градуировкой на 100–150 мл набрать 20 мл 0,005 % раствора кальцинированной соды с фенолфталеином, имеющего розовую окраску, а затем набрать в тот же шприц 80 мл воздуха (до отметки 100 мл) и встряхивать в течение 1 мин. Если не произошло обесцвечивания раствора, воздух из шприца осторожно выдавить, оставив в нем раствор и вновь набрать такую же порцию воздуха и встряхивать ее еще 1 мин. Если после встряхивания раствор не обесцветился, эту операцию следует повторить еще несколько раз до полного обесцвечивания раствора, добавляя воздух небольшими порциями, по 10–20 мл, каждый раз встряхивая шприц в течение 1 мин.

Подсчитав общий объем воздуха, прошедшего через шприц и обесцветившего раствор соды, определить концентрацию CO_2 в воздухе помещения по таблице (1 ‰ = 0,1 ‰). Зависимость содержания CO_2 в воздухе от объема воздуха, обесцвечивающего 20 мл 0,005 % раствора карбоната натрия.

II метод. Приготовить поглотительный раствор путем смешения 0,04 мл 25 %-ного раствора аммиака с 500 мл дистиллированной воды и 1–2 каплями 1 %-ного раствора фенолфталеина. В пробирку налить 10 мл поглотительного раствора и закрыть резиновой пробкой, которую заранее проколоть иглой от шприца.

Сначала исследование проводится с воздухом открытой атмосферы. Для этого воздух забирают шприцем до отметки 20 мл и под давлением ввести через иглу в пробирку с аммиачным раствором. Не отпуская поршня, пробирку энергично взболтать для поглощения CO_2 из воздуха. Эти манипуляции провести до полного обесцвечивания поглотительного раствора. Записать, сколько раз (число шприцев) пришлось вводить воз-

дух из шприца в пробирку, чтобы раствор обесцветился. После этого пробирку освободить от использованного раствора, ополоснуть дистиллированной водой, заполнить свежим поглотительным раствором (10 мл) и точно так же провести эксперимент с воздухом в помещении. Снова отметить число шприцев, использованных на обесцвечивание раствора. Как правило, во втором случае для нейтрализации аммиачного раствора требуется меньшее число шприцев воздуха.

Таблица 2

Концентрация оксида углерода в объеме воздуха

Объем воздуха, мл	Концентрация CO ₂ , ‰	Объем воздуха, мл	Концентрация CO ₂ , ‰	Объем воздуха, мл	Концентрация CO ₂ , ‰
80	3,20	330	1,16	410	0,84
160	2,08	340	1,12	420	0,80
200	1,82	350	1,08	430	0,76
240	1,56	360	1,04	440	0,70
260	1,44	370	1,00	450	0,66
280	1,36	380	0,96	460	0,60
300	1,28	390	0,92	470	0,56
320	1,20	400	0,88	480	0,52

Концентрацию оксида углерода (IV) в воздухе определить по формуле:

$$w(\%) = 0,04 n/n_1,$$

где n – число шприцев воздуха открытой атмосферы; n₁ – число шприцев воздуха исследуемого помещения.

Проведя исследование обоими методами сравнить полученные результаты и рассчитать необходимый объем вентиляции и необходимую кратность вентиляции в исследуемом помещении для обеспечения концентрации CO₂ на уровне ПДК, а также рассчитать фактические объем и кратность вентиляции и сделать вывод об эффективности воздухообмена в исследуемом помещении.

Расчет показателей воздухообмена в помещении

Воздух жилых помещений считается чистым, если концентрация CO₂ не превышает предельно допустимых концентраций – 0,07 ‰ (0,7 ‰)–0,1 ‰ (1,0 ‰).

На этом основании рассчитывается **необходимый объем вентиляции** – количество воздуха (в м³), которое должно поступать в помещение в течение

1 ч, чтобы концентрация CO_2 в воздухе не превысила предельно допустимых концентраций для данного вида помещений. Его рассчитывают по формуле:

$$V = \frac{K \cdot n}{P - P_1},$$

где: V – объем вентиляции, $\text{м}^3/\text{час}$; K – количество CO_2 , выделяемое одним человеком за один час, м^3 (в покое 21,6 л/ч; во сне – 16 л/ч; при выполнении работы разной тяжести – 30–40 л/ч); n – количество людей в помещении; P – предельно допустимая концентрация CO_2 в промилле (0,7 или 1,0 ‰); P_1 – концентрация CO_2 в атмосферном воздухе в промилле (0,4 ‰).

При расчете количества CO_2 , которое выделяет один человек за один час, исходят из того, что взрослый человек при легкой физической работе производит в течение 1 минуты 18 дыхательных движений с объемом каждого вдоха (выдоха) 0,5 л и, следовательно, в течение часа выдыхает 540 л воздуха ($18 \times 60 \times 0,5 = 540$).

Учитывая, что концентрация углекислого газа в выдыхаемом воздухе примерно 4% (3,4–4,7 ‰), то общее количество выдыхаемого углекислого газа за пропорцией составит:

$$x = \frac{540 \cdot 4}{100} = 21,6 \text{ л/час}$$

При физических нагрузках пропорционально их тяжести и интенсивности возрастает количество дыхательных движений, а потому возрастает и количество выдыхаемого CO_2 и необходимый объем вентиляции.

Необходимая кратность вентиляции – число, которое показывает, сколько раз в течение часа меняется воздух помещения, чтобы концентрация CO_2 не превышала предельно допустимых уровней. Необходимую кратность вентиляции находят путем деления рассчитанного необходимого объема вентиляции на кубатуру помещения.

Фактический объем вентиляции находят путем определения площади вентиляционного отверстия и скорости движения воздуха в нем (фрамуга, форточка). При этом учитывают, что через поры стен, щели в окнах и двери в помещение проникает объем воздуха, близкий к кубатуре помещения и его нужно прибавить к объему, который проникает через вентиляционное отверстие.

Фактическую кратность вентиляции рассчитывают делением фактического объема вентиляции на кубатуру помещения.

Сопоставляя необходимые и фактические объемы и кратность вентиляции, оценивают эффективность обмена воздуха в помещении.

Контрольные вопросы

1. Допустимое количество углекислого газа в воздухе.
2. Как находится кратность вентиляции на кубатуру помещения, чтобы концентрация углекислого газа не превышала предельно допустимую концентрацию в помещении.
3. Каково устройство прибора по Лунге-Цеккендорфу в модификации Д.В. Прохорова.
4. На чем основан экспресс-метод Лунге-Цеккендорфу в модификации Д.В. Прохорова.
5. Какая происходит химическая реакция при пропуске исследуемого воздуха через титрованный раствор углекислого натрия (или аммиака) в присутствии фенолфталеина, напишите ее.
6. Каковы последствия большой концентрации углекислого газа в помещении.
7. Какова предельно допустимая концентрация (ПДК) углекислого газа в жилых помещениях.
8. Какова зависимость содержания углекислого газа от объема воздуха, обесцвечивающего 20 мл 0,005 % раствора карбоната натрия.

РАБОТА № 3. УЧЕТ ЧИСЛЕННОСТИ БАКТЕРИЙ В ВОЗДУХЕ

Цель работы. Изучить методики учета микрофлоры воздуха. Определить общее количество микроорганизмов в 1 м³ воздуха. Произвести сравнение количества микроорганизмов в воздухе помещений.

Необходимое оборудование. 1) Стерильные чашки Петри с плотной питательной средой; 2) Маркер.

Теоретическая часть. В атмосферном воздухе содержится большое количество микроорганизмов – почвенных сапрофитов: спорообразующих бацилл, пигментных бактерий, грибов и дрожжей. Чем выше концентрация в воздухе пыли, дыма, копоти, тем больше микробов.

Каждая частица пыли обладает способностью адсорбировать на своей поверхности множество микроорганизмов. В 1 г пыли содержится до 1 млн бактерий. Воздух является неблагоприятной средой для микробов. Отсутствие питательных веществ, влаги, оптимальной температуры, губительное действие ультрафиолетовых лучей и высыхания не создают условий для сохранения микроорганизмов и большая часть их погибает. Однако и сравнительно короткое пребывание бактерий в воздухе бывает

вполне достаточно, чтобы обеспечить передачу микробов от больных людей здоровым и вызвать эпидемию, например, гриппа.

В воздухе закрытых помещений обнаруживаются микроорганизмы, выделяющиеся постоянно со слизистых оболочек верхних дыхательных путей человека. От больных людей, наряду с условно патогенными микроорганизмами, например, стафилококками и зелеными стрептококками, выделяются в окружающую среду патогенные микробы (возбудители дифтерии, коклюша, туберкулеза и др.).

Микробы могут распространяться токами воздуха, воздушно-пылевым и воздушно-капельным путем. При чихании, кашле, разговоре больной человек выбрасывает в окружающую среду на расстояние 1–1,5 м и более, вместе с каплями слизи, мокроты, патогенные бактерии. Количество микроорганизмов в рабочих помещениях и жилых зданиях находится в тесной связи с санитарно-гигиеническим режимом. При скоплении людей, плохой вентиляции, слабом естественном освещении, неправильной уборке помещений количество микробов увеличивается. Сухая уборка, редкое мытье полов, использование грязных тряпок и щеток, сушка их в том же помещении создают благоприятные условия для накопления в воздухе микроорганизмов.

Лабораторное исследование воздуха проводят с целью определения количественного и качественного состава находящейся в нем микрофлоры. Этот показатель зависит, с одной стороны, от источника его заражения, с другой стороны, от тех условий, которые ведут к накоплению пыли и способствуют поступлению ее вместе с микрофлорой в воздух.

Методы учета воздушной микрофлоры. Воздух помещений содержит преимущественно витающую пыль, атмосферный воздух кроме витающей пыли в значительной степени обогащен оседающей пылью. Поэтому при изучении микрофлоры помещений пользуются аспирационными методами, при которых улавливают мелкие частицы витающей пыли и находящиеся на них и в воздухе микробы; при изучении же атмосферного воздуха приходится учитывать как витающую микрофлору, так и микрофлору, оседающую вместе с пылью.

Для исследования микрофлоры помещений и атмосферного воздуха чаще всего пользуются аппаратом Кротова. Одновременно с этим пользуются методом Коха, который дает возможность составить представление не об абсолютном содержании микроорганизмов в воздухе, а лишь об относительном: он дает возможность судить о степени загрязненности воздуха микрофлорой, оседающей с пылью.

Нормативы по оценке бактериальной загрязненности воздуха в настоящее время отсутствуют. В Арктике при 70 °С.ш. в 1 м³ воздуха содержится от

одной до 10 клеток. Морской воздух в таком же объеме содержит 1–2 клетки, воздух городского парка – 200, улицы в городе – 5000, жилое помещение – 20000, скотный двор – 1–2 млн бактерий.

Метод Ю.А. Кротова. Улавливание микроорганизмов при этом методе производится с помощью прибора, сконструированного автором. Его работа основана на просасывании воздуха с определенной скоростью с помощью вентилятора через клиновидную щель, находящуюся над чашкой Петри.

При обычных анализах общего обсеменения 50 л воздуха пропускают в течение 2 мин. Таким образом, за час можно засеять около 25 чашек. При большом заражении воздуха экспозицию сокращают до 1 мин, так как на чашке не должно быть более 300 колоний. При использовании элективных сред пропускают по 350–300 л воздуха. Засеянные чашки ставят в термостат на проращивание и количество выросших колоний учитывают обычными методами.

Метод осаждения Р. Коха – самый простой метод для суждения о зараженности воздуха микроорганизмами, однако он дает лишь ориентировочное представление о содержании микрофлоры в воздухе. С его помощью можно учесть микрофлору тяжелой оседающей пыли, которая не захватывается воздушными токами, создаваемыми аппаратом Кротова и которая не учитывается другими аспирационными методами.

Для суждения о степени загрязненности воздуха по методу Коха чашки Петри со стерильными пластинками питательного агара в зависимости от предполагаемого загрязнения оставляют на некоторое время открытыми, обычно на 20 мин, в чистом воздухе примерно на 1 ч, а в грязном – на 5–10 мин. После экспозиции чашки закрывают и оставляют на сутки в термостате при +37 °С, что дает возможность развиваться бактериальной микрофлоре, затем чашки переставляют в термостат с температурой +25 °С. При таких условиях прорастают бактерии, требующие для своего развития более низких температур, а также плесневые грибы.

На площади в 100 см² за 5 минут осаждаются примерно столько же бактерий, сколько находится в 10 л воздуха (0,01 м³). Зная площадь чашки Петри, по этим данным можно подсчитать количество клеток в 1 м³ воздуха. Для этого число колоний, выросших в чашке Петри, относят к общей площади чашки, затем пересчитывают, сколько таких колоний поместилось бы на 100 см², и переводят на 1 м³ воздуха.

Пример расчета. В чашке Петри диаметром 10 см выросло 45 колоний, площадь чашки составляет $3,14 \times 5^2 = 78,5 \text{ см}^2$. Чтобы подсчитать число клеток на 100 см² (равнозначных 10 л, или 0,01 м³), составляют пропорцию:

$$\begin{aligned} 78,5 \text{ см}^2 &- 45 \text{ колоний} \\ 100 \text{ см}^2 &- X \text{ колоний} \\ X &= 100 \times 78,5 = 57 \end{aligned}$$

Таким образом, в $0,01 \text{ м}^3$ воздуха находится 57 клеток, а в 1 м^3 их будет в 100 раз больше, то есть 5700.

В исследуемых помещениях размещают по три чашки Петри с питательным агаром, после подсчета в них микроорганизмов выводят среднее арифметическое. Для определения качественного состава микрофлоры колонии на чашках группируют по культуральным признакам, из каждой группы готовят препараты и микроскопируют. По морфологическим и культуральным признакам устанавливают род, а в отдельных случаях и вид бактерий. Если чашки выставляют в разных помещениях в одно и то же время, то по результатам анализа можно судить об относительной чистоте воздуха каждого помещения. Чем больше пыли в воздухе, тем больше в нем микроорганизмов.

Метод улавливания воздушной микрофлоры жидкостями. Для этого определенный объем воздуха в течение заданного времени пропускают через поглотитель с определенным объемом воды или какой-либо жидкой среды. После пропускания воздуха производят посев на различные среды, затем чашки и пробирки ставят в термостат. Результаты опыта учитывают обычными методами.

Ход работы:

1. Установить чашки с агаром на ровной поверхности в аудитории и на лестничной площадке.
2. Произвести посев микроорганизмов воздуха в течение 5 мин в обоих помещениях, для чего снять крышки с чашек.
3. Перенести чашки в термостат; при $+37 \text{ }^\circ\text{C}$ и $+20 \text{ }^\circ\text{C}$ выдержать посевы в течение 48 ч. Окончательный подсчет колоний произвести на пятые сутки.
4. Произвести расчет количества микроорганизмов в 1 м^3 воздуха исследуемых помещений.
5. Сделать вывод об относительной чистоте воздуха каждого помещения.

Контрольные вопросы

1. Какова цель микробного исследования воздуха?
2. Какие факторы обуславливают наличие бактерий в воздухе?
3. Перечислите методы учета микрофлоры воздуха.
4. В чем сущность метода Кротова?
5. На чем основан способ осаждения микроорганизмов Р. Коха?
6. Чем отличается метод улавливания микробов жидкостями?
7. В чем сущность аспирационных методов?

8. Какие водные объекты и почему должны быть подвергнуты анализу в микробиологической лаборатории?
9. Перечислите методы, используемые при санитарно-гигиеническом исследовании воды?
10. Как производится отбор проб воды для анализа микрофлоры?
11. Какие методы используются для общего учета микрофлоры воды?
12. Какие показатели характеризуют степень загрязнения воды?

РАБОТА № 4. ОЦЕНКА УРОВНЯ ЗАГРЯЗНЕНИЯ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА МЕТОДОМ БИОИНДИКАЦИИ

Цель работы. Изучить способы оценки качества атмосферного воздуха методом биоиндикации. Изучить методику экологического состояния зеленых насаждений. Определить состояние зеленых насаждений, произрастающих на выбранном участке (в пределах г. Волгограда). Произвести анализ полученных результатов.

Необходимое оборудование. 1) Рулетка (10 м); 2) Рулетка (1,5 м); 3) Мелки (белые или цветные); 4) Веревка (80 м); 5) Колышки деревянные.

Теоретическая часть. В настоящее время проблема достоверной оценки актуального состояния и качества компонентов окружающей среды с учетом локального техногенного загрязнения наземных экосистем, находящихся в непосредственной близости к промышленным предприятиям на территории городов, приобрела особую актуальность. Одним из критериев, отражающих качество среды и уровень ее экологического благополучия для проживающего в данной местности населения, является состояние атмосферного воздуха и, в частности, степень его загрязнения различного рода токсичными элементами.

Для оценки уровня загрязнения атмосферного воздуха на территории Российской Федерации функционирует сеть постов общегосударственной службы наблюдений и контроля за загрязнением атмосферы. На данных постах определяется содержание в атмосферном воздухе целого спектра загрязняющих веществ, поступающих от антропогенных источников выбросов. Контроль качества атмосферного воздуха в населенных пунктах организуется в соответствии с ГОСТом 17.2.3.01–86 «Охрана природы. Атмосфера. Правила контроля качества воздуха населенных пунктов», для чего на территории населенных пунктов устанавливают посты наблюдений следующих категорий:

– стационарные посты, предназначенные для регулярного отбора проб воздуха и непрерывного контроля за содержанием загрязнителей;

– маршрутные посты – для регулярного наблюдения с помощью специально оборудованных автомобилей;

– передвижные посты, организуемые вблизи магистралей с целью выяснения особенностей загрязнения воздуха создаваемого автомобилями;

– подфакельные посты – для изучения особенностей загрязнения воздуха выбросами отдельных промышленных предприятий (могут быть организованы на базе передвижных или стационарных постов).

Помимо количественного определения содержания поллютантов в атмосферном воздухе, существуют методы качественной оценки уровня загрязненности атмосферы. Одними из таких методов экомониторинга являются биоиндикация и биотестирование, основанные на определении состояния биоты, ее реакции на антропогенное воздействие, а также функции состояния и отклонения этой функции от нормального естественного состояния на различных уровнях (молекулярном, клеточном, организменном, популяционном, на уровне сообщества).

Применение метода биоиндикации, в отличие от физического или химического измерения антропогенных факторов, дает возможность обнаружить и определить биологически значимые антропогенные нагрузки.

Основными требованиями к организмам-биоиндикаторам являются их многочисленность, активная реакция на изменение качества окружающей среды, а также постоянная связь с антропогенным фактором. Поэтому наиболее часто в качестве индикаторов используются некоторые виды рыб, водные беспозвоночные, микроорганизмы, водоросли, мхи и лишайники, отдельные породы деревьев.

Метод лишеноиндикации. В лишеноиндикационных исследованиях в качестве субстрата используются различные деревья. Для оценки загрязнения атмосферы города, районного центра, поселка в качестве вида-индикатора, как правило, выбирается порода, которая наиболее распространена на исследуемой территории. Так, для г. Волгограда, в качестве вида-индикатора может быть использован вяз мелколистный (*Ulmus pumila*).

Город или поселок делят на квадраты, в каждом из которых подсчитывается общее число исследуемых деревьев и деревьев, покрытых лишайниками. К примеру, в г. Волгограде такими зонами могут выступать санитарно-защитные зоны промышленных предприятий, участки вблизи крупных автомагистралей, селитебная и рекреационная зоны.

Для оценки загрязнения атмосферы конкретной магистрали, улицы или парка описывают лишайники, которые растут на деревьях по обеим сторонам улицы или аллеи парка на каждом третьем, пятом или десятом дереве.

Пробная площадка ограничивается на стволе деревянной рамкой, например, размером 10 x 10 см, которая разделена внутри тонкими проволочками на квадратики по 1 см². Либо можно сделать палетку из кальки или распечатать с сеткой и надежно закрепить белый лист А4 в файле и т. п.

Алгоритм процедуры измерений состоит в следующем:

1) палетку накладывают на ствол дерева и фиксируют кнопками или булавками. При этом палетка, вырезанная из бутылки, легче закрепляется на стволе дерева, поскольку постоянно стремится к округлой форме.

2) при работе с палеткой на каждом стволе измерения производят четыре раза – с четырех сторон света.

Подсчет лишайников на каждом участке ствола производят следующим образом:

– считают число квадратов, в которых лишайники занимают (на глаз) больше половины площади квадрата (а), условно приписывая им покрытие, равное 100 %;

– подсчитывают число квадратов, в которых лишайники занимают менее половины площади квадрата (b), условно приписывая им покрытие, равное 50 %.

3) данные записывают в рабочую таблицу (по каждому виду).

Общее проективное покрытие в процентах (R) вычисляют по формуле:

$$R = (100 a + 50 b) / C,$$

где а – количество квадратов, в которых лишайники занимают (на глаз) больше половины площади квадрата; b – количество квадратов, в которых лишайники занимают менее половины площади квадрата; С – общее число квадратов палетки (например, при использовании палетки 10 x 10 см с ячейками 1 x 1 см, С = 100).

Кроме того, указывают жизнеспособность каждого образца: есть ли у него плодовые тела, здоровое или чахлое слоевище. На каждом дереве описывают как минимум четыре пробные площадки: две у основания ствола (с разных его сторон) и две на высоте 1,4–1,6 м.

Обследование можно проводить по наличию какого-то одного вида лишайников на данной территории, или же собрать информацию о его обилии в разных точках, либо подсчитать количество всех видов лишайников, произрастающих в районе исследования.

Помимо выявления видового состава, при проведении индикации определяют размеры розеток лишайников и степень покрытия в процентах. Оценка встречаемости и покрытия дается по 5-балльной шкале (табл. 3).

Шкала оценки встречаемости и степени покрытия лишайников

Частота встречаемости, %		Степень покрытия, %		Балл оценки
Очень редко	>5	Очень низкая	>5	1
Редко	5-20	Низкая	5-20	2
Редко	20-40	Средняя	20-40	3
Часто	40-60	Высокая	40-60	4
Очень часто	60-100	Очень высокая	60-100	5

Таким образом, для каждой площадки описания и для каждого типа роста лишайников – кустистых, листоватых и накипных – выставляются баллы встречаемости и покрытия.

После проведения исследований на нескольких десятках деревьев делается расчет средних баллов встречаемости и покрытия для каждого типа роста лишайников – накипных (Н), листоватых (Л) и кустистых (К).

Имея баллы средней встречаемости и покрытия Н, Л, К, можно рассчитать показатель **относительной чистоты атмосферы** (ОЧА) по формуле:

$$\text{ОЧА} = (\text{Н} + 2*\text{Л} + 3*\text{К}) / 30$$

Чем выше получается показатель ОЧА (ближе к единице), тем, соответственно, чище воздух местообитания.

Метод оценки экологического состояния зеленых насаждений общего пользования основывается на определении количественного, видового и возрастного состава и оценке состояния (жизнеспособности) древесных насаждений и проводится на основании перечета деревьев.

Использование метода сплошного перечета древостоя проводится только на объектах, где их численность не превышает 300 шт.

На объектах с количеством деревьев более 300 штук вместо сплошного перечета деревьев, закладываются линейные или прямоугольные пробные площади (ПП) размером 400 квадратных метров, на которых производится сплошной пересчет древесных растений. После сбора и обработки данных о насаждениях на ПП формируется характеристика насаждений на всем объекте.

При перечете деревьев указываются порода, диаметр ствола, категория состояния, повреждения вредителями, поражения болезнями и другими негативными (в том числе, антропогенными) факторами среды.

В учетной карточке пробной площадки указываются следующие параметры и показатели деревьев:

- вид древесного растения;
- диаметр ствола (см), измеренный на высоте 1,3 м;
- высота дерева (м);
- возрастная группа дерева (класс возраста 1–5): до 15 лет, 15–25 лет, 25–45 лет, 45–60 лет; старше 60 лет;
- категория состояния дерева (табл. 4).

При обработке учетных карточек для оценки общего состояния древостоя на объектах зеленых насаждений общего пользования категории состояния деревьев объединяют в три группы:

I – деревья хорошего состояния – деревья 1 категории (без признаков ослабления),

II – деревья удовлетворительного состояния – 2 и 3 категории (ослабленные и сильно ослабленные),

III – деревья неудовлетворительного состояния – 4, 5 и 6 категорий (усыхающие деревья, сухостой текущего и прошлого года).

На каждую площадку составляется геоботаническое описание на специальном бланке, где отмечается: характеристика месторасположения, расстояние от дороги, положение относительно дороги, координаты, дата описания, количество деревьев на площадке, породный состав, высота деревьев, категория состояния.

Начинать собственно описание площадки следует с оценки сомкнутости крон. Под сомкнутостью понимается доля площади поверхности земли, занятая проекциями крон. Можно также характеризовать сомкнутость, как ту часть неба, которая закрыта кронами (то есть необходимо оценить соотношение между «открытым небом» и кронами).

Сомкнутость крон принято выражать в долях единицы – от 0,1 до 1, то есть отсутствие крон принимается за ноль, а полное смыкание крон – за 1. При этом просветы между ветвями в расчет не принимаются – «кроной» считается пространство, очерченное мысленно по крайним ветвям (периметру) кроны. Для оценки сомкнутости крон древесного яруса лучше всего встать по центру площадки (или лечь на землю), посмотреть вверх и оценить, насколько небо закрыто ветвями и листьями. Поскольку оценка дается приблизительно, «на глаз», то, для более точного результата необходимо, чтобы оценку сделали несколько человек, а затем посчитать среднее значение.

После оценки видового состава и сомкнутости крон древесного яруса необходимо оценить эти же показатели для подроста и подлеска.

Оценив видовой состав и сомкнутость крон, переходят к составлению формулы леса – оценке того, какую долю в древесном и кустарниковом ярусах составляет каждый отдельный вид.

Категории состояния деревьев

Балл	Категории состояния деревьев	Признаки деревьев разных категорий состояния
1	Без признаков ослабления	Листва или хвоя зеленые нормальных размеров, крона густая нормальной формы и развития, повреждения вредителями и поражение болезнями единичны или отсутствуют
2	Ослабленные	Листва или хвоя часто светлее обычного, в кроне менее 25 % сухих ветвей. Возможны признаки местного повреждения ствола механические повреждения.
3	Сильно ослабленные	Листва мельче или светлее обычной крона изрежена, сухих ветвей от 25 до 50 %. Часто имеются признаки повреждения болезнями и вредителями ствола, ветвей, хвои и листвы, в том числе попытки или местные поселения стволовых вредителей.
4	Усыхающие	Листва мельче, светлее или желтее обычной, хвоя серая, желтоватая или желто-зеленая, часто преждевременно опадает или усыхает, крона сильно изрежена, в кроне более 50 % сухих ветвей. На стволе и ветвях часто имеются признаки заселения стволовыми вредителями.
5	Сухостой текущего года	Листва усохла, увяла или преждевременно опала, хвоя серая, желтая или бурая, крона усохла, но мелкие веточки и кора сохранились. На стволе, ветвях и корневых лапах часто признаки заселения стволовыми вредителями или их вылетные отверстия
6	Сухостой прошлых лет	Листва или хвоя осыпались или сохранились лишь частично, мелкие веточки и часть ветвей опали, кора разрушена или опала на большей части ствола. На стволе и ветвях имеются вылетные отверстия насекомых, под корой – обильная буровая мука и грибица дереворазрушающих грибов

Долю видов в формуле леса принято выражать в баллах – от 1 до 10. Общий объем крон всех растений принимается за 10 и оценивается, какую часть составляет каждый вид. Отдельно стоящие растения, по их представленности в лесу не достигающие 10 % (менее 1 балла), помечаются в формуле значком «+», а единичные растения (1–2 на исследуемой площади) значком «ед.».

Названия видов в формуле леса сокращаются до одной или двух букв, например: береза – Б, дуб – Д, вяз – В, сосна – С, ель – Е, тополь – Т, ольха серая – Ол.с., ольха черная – Ол.ч., лиственница – Лц, крушина – Кр, малина – Мл и т. д.

Например, формула 6Е4Б означает, что спелый древостой на 60 % образован елью и на 40 % – березой; формула 10Е означает, что насаждение чистое, состоит из одной древесной породы – ели; формула 10Е+Б означает, что в древостое кроме ели имеется незначительная примесь березы.

Отличие формулы древостоя от показателя сомкнутости состоит в том, что в формулу включаются все без исключения виды древесных и кустарниковых растений, даже редкие и единично встречающиеся. При оценке сомкнутости эти виды не учитываются вовсе, как несущественные в общем пространстве крон (так как на практике крайне сложно оценить количественно сомкнутость крон далеко стоящих друг от друга деревьев или единичных экземпляров).

Высота древостоя (H_d) – минимальное, максимальное и среднее значения высоты деревьев каждого вида по отдельности.

Измерение высоты проводится обычно одним из четырех способов: 1) на глаз (что требует большого опыта), 2) путем измерения рулеткой или метром одного из упавших деревьев данного полога (при их наличии), 3) путем подсчета «человечков»; 4) путем измерения тени.

В большинстве случаев применяют третий способ, при этом измерение проводят вдвоем. Один человек становится рядом с деревом, а другой (с хорошим глазомером), отойдя на некоторое расстояние, чтобы охватить взглядом все дерево от корней до вершины, «откладывает» на глаз сколько «человек» данного роста «укладывается» по всей длине ствола. При этом рациональнее откладывать «двойное» расстояние, то есть мысленно отложить сначала высоту двух «человечков», затем прибавить к ним еще двух, затем – четырех и т. д. С точки зрения человеческого глазомера этот метод наиболее оптимален. Зная точный рост «человечка», затем производят подсчет высоты дерева.

Наиболее точным способом определения возраста растений является подсчет годовых колец спиленных деревьев, если таковые присутствуют на исследуемой площадке. Кольца следует считать как можно ближе к основанию дерева. Можно также воспользоваться свежим пнем, если таковые имеются. Ни в коем случае для определения возраста растения не следует его срубить. Примерный возраст деревьев можно определить, зная приблизительный срок их посадки, скорость роста конкретного вида и его продолжительность жизни, либо по количеству разветвлений ствола и общему состоянию дерева.

Ход работы:

1. Определить местоположение пробной площадки и с помощью рулетки, веревки и колышков обозначить ее границы;

2. Выполнить общее геоботаническое описание площадки и определить сомкнутость крон;
3. Выполнить описание и оценку состояния каждого дерева, расположенного в границах площадки (помечая мелком уже изученные растения);
4. Составить формулу леса;
5. Оценить экологическое состояние исследуемых насаждений на основе полученных данных.

Контрольные вопросы

1. Какова цель и практическая значимость оценки качества атмосферного воздуха?
2. В чем состоят отличительные особенности биоиндикации как вида экологического мониторинга?
3. Каковы преимущества и недостатки биоиндикационных методов?
4. Назовите основные методы биоиндикации и их суть.
5. Каким образом происходит оценка экологического состояния зеленых насаждений (алгоритм)?
6. Охарактеризуйте способы измерения высоты древостоя. Какой способ Вы считаете наиболее оптимальным?
7. Как определяется диаметр ствола?
8. Как определяется возраст деревьев, если на площадке отсутствуют пни и поваленные деревья?

РАЗДЕЛ № 2. МОНИТОРИНГ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

РАБОТА № 5. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ВОДЫ

Цель работы: Научиться описывать и определять органолептические показатели воды: запах, вкус, цветность, прозрачность.

Необходимое оборудование 1) Цилиндр Снеллена; 2) Шрифты; 3) Химические стаканы; 4) Часовое стекло; 5) Электрическая плитка; 6) Проба воды из любого водоема.

Теоретическая часть.

Органолептические показатели. К числу органолептических показателей относятся те параметры качества воды, которые определяют ее потребительские свойства, то есть те свойства, которые непосредственно влияют на органы чувств человека (обоняние, осязание, зрение). Наиболее значимые из этих параметров – вкус и запах – не поддаются формальному измерению, поэтому их определение производится экспертным пу-

тем. Работа экспертов, дающих оценку органолептическим свойствам воды, очень сложна и ответственна и во многом сходна с работой дегустаторов самых изысканных напитков, так как они должны улавливать малейшие оттенки вкуса и запаха.

Запах и вкус. Химически чистая вода совершенно лишена вкуса и запаха. Однако в природе такая вода не встречается – она всегда содержит в своем составе растворенные вещества. По мере роста концентрации неорганических и органических веществ, вода начинает принимать тот или иной привкус и/или запах. С научной точки зрения, запах и вкус – это свойство веществ (в нашем случае воды) вызывать у человека и животных специфическое раздражение рецепторов слизистой оболочки носоглотки и языка. Механизмы вкусового и обонятельного восприятия у людей связаны между собой, и неискушенному человеку подчас довольно трудно разделить их влияние друг на друга. Поэтому имеет смысл объединить эти два органолептических признака, указав ниже на характерные признаки каждого из них. По этой же причине, хотя наличие в воде запаха и вкуса (привкуса) иногда чувствуется достаточно явно, их характер и интенсивность должны определять специалисты с помощью утвержденных методик. Следует также иметь в виду, что запах/привкус может появиться в воде на нескольких этапах: в природной воде, в процессе водоподготовки, при транспортировке по трубопроводам. Правильное определение источника возникновения неприятностей с органолептикой – залог успешности их устранения. Основными причинами возникновения привкуса и запаха в воде являются:

Гниющие растения. Водоросли и водные растения в процессе гниения могут вызывать рыбный, травяной, гнилостный запах воды.

Грибки и плесень. Эти микроорганизмы вызывают возникновение плесневого, землистого или затхлого запаха и привкуса. Тенденция к размножению этих микроорганизмов возникает в местах застоя воды и там, где вода может нагреваться (например, в системах водоснабжения больших зданий с накопительными емкостями).

Железистые и сернистые бактерии. Оба типа бактерий выделяют продукты жизнедеятельности, которые при разложении создают резко неприятный запах.

Железо, марганец, медь, цинк. Продукты коррозии этих металлов придают воде характерный резкий привкус.

Поваренная соль. В небольших концентрациях придает воде определенный вкус, которые многие люди считают даже привычным. Однако с ростом концентрации приводит к возникновению солоноватого, а затем и резко соленого вкуса.

Промышленные отходы. Многие вещества, содержащиеся в сточных водах промышленного производства, могут вызвать сильный лекарственный или химический запах воды. В частности, проблемой являются фенольные соединения, которые при хлорировании воды создают обладающие характерным запахом хлорфенольные соединения.

Хлорирование воды. Вопреки широко распространенному мнению, сам хлор при правильном использовании не вызывает возникновения сколько-нибудь заметного запаха или привкуса. Появление же такого запаха/привкуса свидетельствует о передозировке при хлорировании. В то же время, хлор способен вступать в химические реакции с различными растворенными в воде веществами, образуя при этом соединения, которые собственно и придают воде хорошо известный многим запах и привкус «хлорки».

Запах. Запах вызывают летучие пахнущие вещества. Запах воды характеризуется видами запаха и интенсивностью запаха. На запах воды оказывают влияние состав растворенных веществ, температура, значения рН и целый ряд прочих факторов. По виду специалисты различают более десятка типов запаха (кроме перечисленных выше – пряный, бальзамический, огуречный и т. д.). Интенсивность запаха воды определяют экспертным путем при +20 °С и +60 °С и измеряют в баллах (табл. 4).

Таблица 4

Балльная школа запахов

Интенсивность запаха	Характер появления запаха	Оценка интенсивности, балл
Нет	Запах не ощущается	0
Очень слабая	Запах не ощущается потребителем, но обнаруживается при лабораторном исследовании	1
Слабая	Запах замечается потребителем, если обратить на это его внимание	2
Заметная	Запах легко замечается и вызывает неодобрительный отзыв о воде	3
Отчетливая	Запах обращает на себя внимание и заставляет воздержаться от питья	4
Очень сильная	Запах настолько сильный, что делает воду непригодной к употреблению	5

Вкус. Вкус воды определяется растворенными в ней веществами органического и неорганического происхождения и различается по характеру и интенсивности. Различают четыре основных вида вкуса: соле-

ный, кислый, сладкий, горький. Все другие виды вкусовых ощущений называются привкусами (щелочной, металлический, вязущий и т. п.). Интенсивность вкуса и привкуса определяют при 20 °С и оценивают по пятибалльной системе (табл. 5)

Таблица 5

Балльная шкала вкуса

Интенсивность вкуса и привкуса	Характер появления вкуса и привкуса	Оценка интенсивности, балл
Нет	Вкус и привкус не ощущаются	0
Очень слабая	Вкус и привкус не ощущаются потребителем, но обнаруживаются при лабораторном исследовании	1
Слабая	Вкус и привкус замечаются потребителем, если обратить на это его внимание	2
Заметная	Вкус и привкус легко замечаются и вызывают неодобрительный отзыв о воде	3
Отчетливая	Вкус и привкус обращают на себя внимание и заставляют воздержаться от питья	4
Очень сильная	Вкус и привкус настолько сильные, что делают воду непригодной к употреблению	5

Цветность. Цветностью называют показатель качества воды, характеризующий интенсивность окраски воды. Определяется цветность путем сравнения окраски испытуемой воды с эталонами и выражается в градусах платиново-кобальтовой шкалы.

Цветность природных вод может колебаться от единиц до тысяч градусов. Различают «истинный цвет», обусловленный только растворенными веществами, и «кажущийся» цвет, вызванный присутствием в воде коллоидных и взвешенных частиц.

Цветность природных вод обусловлена в основном присутствием окрашенных органических веществ (главным образом соединений гуминовых кислот) и соединений трехвалентного железа и некоторых других металлов (в виде естественных примесей или продуктов коррозии).

Сточные воды некоторых предприятий также могут создавать довольно интенсивную окраску воды. Количество влияющих на цветность веществ зависит от геологических условий, водоносных горизонтов, характера почв и т. п. Так, наибольшую цветность имеют поверхностные воды рек и озер, расположенных в зонах торфяных болот и заболоченных лесов, наименьшую – в лесостепях и степных зонах.

Зимой содержание органических веществ в природных водах минимальное, в то время как весной в период половодья и паводков, а также летом в период массового развития водорослей – «цветения» воды – оно повышается. Подземные воды, как правило, имеют меньшую цветность, чем поверхностные.

Таким образом, высокая цветность является тревожным признаком, свидетельствующим о неблагополучии воды. При этом очень важно выяснить причину цветности, так как методы удаления, например, железа и органических соединений отличаются. Наличие же органики не только ухудшает органолептические свойства воды, приводит к возникновению посторонних запахов, но и вызывает резкое снижение концентрации растворенного в воде кислорода, что может быть критично для ряда процессов водоочистки. Некоторые в принципе безвредные органические соединения, вступая в химические реакции (например, с хлором), способны образовывать очень вредные и опасные для здоровья человека соединения.

Прозрачность. Прозрачность воды является важным признаком ее доброкачественности. Прозрачность зависит от содержания в воде механических взвешенных веществ (мути), химических примесей, солей железа.

Питьевая вода должна быть прозрачной. Мутная, непрозрачная вода не эстетична и всегда подозрительна в эпидемическом отношении, так как в мутной воде создаются оптимальные условия для размножения микроорганизмов.

Определение прозрачности. Определение прозрачности производят на месте отбора проб воды. Исследуемую воду после взбалтывания наливают в цилиндр Снеллена (рис. 4), отградуированный по высоте в сантиметрах, с прозрачным плоским дном и имеющий у своего основания тубус для выпуска воды, на который надета резиновая трубка с зажимом. Цилиндр ставят на расстоянии 4 см от дна до печатного шрифта Снеллена № 1, смотрят сверху вниз через столб воды, выпускают через нижнюю трубку воду, пока не будет отчетливо виден шрифт. Высота этого столба воды в сантиметрах определяет степень прозрачности воды.

Образец для определения прозрачности воды:

шрифт Снеллена №1 5 4 1 7 8 3 0 9

Минимально допустимая прозрачность питьевой воды – не менее 30 см по шрифту Снеллена. Вода с прозрачностью от 20 до 30 см – слабо мутная, от 10 до 20 см – мутная, до 10 см – очень мутная.



Рис. 4. Цилиндр Снеллена

Ход работы.

1. Запах воды определяется при обычной температуре и при нагревании до +60 °С. Колбу емкостью 150–200 мл наполняют на $\frac{2}{3}$ исследуемой водой. Закрыв часовым стеклом, ее интенсивно встряхивают и затем, быстро открыв, определяют запах. Качественно запах характеризуют как «хлорный», «землистый», «болотный», «нефтяной», «ароматический», «неопределенный» и т. д. Количественно запах оценивается по пятибалльной системе (табл. 4).

2. При определении запаха воды руки и платье наблюдателя не должны иметь посторонних запахов (духов и проч.), воздух помещения должен быть чистым.

3. Все полученные данные внести в таблицу 6.

Таблица 6

Результаты экспериментальных исследований студентов

№ пробы	Вид пробы	Запах, баллы		Вкус, баллы		Цветность, градусы		Прозрачность, сантиметры	
		ГОСТ	Эксп.	ГОСТ	Эксп.	ГОСТ	Эксп.	ГОСТ	Эксп.
1		Не		Не		Не		Не	
2		более 20		более 20		более 20		менее 20	

4. Сделать вывод по качеству исследуемой воды в водоеме.

Контрольные вопросы

1. Сущность органолептических методов определения свойств воды.
2. Как оценивается интенсивность запаха воды?
3. Как оценивается вкус и привкус воды?
4. Как определяется прозрачность воды?
5. Как определяется цветность воды?
6. Назовите ПДК и ГОСТ для органолептических методов исследования.
7. К чему может привести гниение растений в водоеме.
8. Что влияет на запах воды в водоеме.
9. Каково устройства цилиндра Снеллена и принципы его работы.
10. От каких показателей зависит прозрачность воды в водоеме.

РАБОТА № 6. МЕТОДЫ МОНИТОРИНГА ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

Цель работы: изучить видовой состав водорослей или видовое разнообразие, обилие отдельных видов, виды-индикаторы и на основе выводов оценить экологическое состояние воды пресных водоемов Волгоградской области.

Необходимое оборудование: 1) Микроскоп. 2) Предметные стекла. 3) Покровные стекла. 4) Свежая проба воды из любого водоема. 5) Определитель водных организмов. 6) Пипетки.

Теоретическая часть. В настоящее время оценка загрязнения окружающей среды (воды, почвы, воздуха) производится главным образом на основе результатов химического анализа. Однако из-за огромного числа видов самих загрязняющих веществ, источников и выбросов, а также сложности и высокой стоимости химических анализов организовать эффективный экологический мониторинг средствами аналитической химии практически нельзя. Это невозможно еще и потому, что химико-аналитический контроль не учитывает комбинированный характер действия загрязнителей, когда влияние каждого из них может дополнять, усиливать и подавлять друг друга. Между тем, многие из перечисленных трудностей удастся преодолеть, если в традиционную схему экологического контроля ввести методы биологического анализа. Эти методы основаны на регистрации суммарного действия на объект компонентов загрязнения, оценке экологических условий с помощью биологических индикаторов.

Индикаторами (от лат. Indicator – указывать) является группа особей одного вида или сообщество по наличию или состоянию, поведению которых судят о естественных или антропогенных изменениях в среде, в

том числе о присутствии и концентрации загрязнителей. Таким образом, биоиндикаторы позволяют быстро и с минимальными затратами оценить, является ли анализируемая проба загрязненной или нет.

Общие сведения о водорослях. Водоросли могут использоваться в качестве индикаторов состояния водоема. Они являются биоиндикаторами. Они являются начальным звеном в трофической цепи экосистемы водоема. Это обширная и неоднородная группа примитивных, напоминающих растения организмов. За немногими исключениями, они содержат зеленый пигмент хлорофилл, который необходим для питания путем фотосинтеза, то есть синтеза глюкозы из диоксида углерода и воды. Очень редко встречаются бесцветные водоросли, но во многих случаях зеленый хлорофилл маскируется у них пигментами другого цвета. Фактически среди тысяч видов, входящих в эту группу, можно найти формы, окрашенные в любой из тонов солнечного спектра. Хотя водоросли иногда относят к наиболее примитивным организмам, это мнение можно принять лишь с существенными оговорками. Действительно, у многих из них отсутствуют сложные ткани и органы, сравнимые с хорошо известными у семенных растений, папоротниковидных и даже у мхов и печеночников, однако все процессы, необходимые для роста, питания и размножения их клеток, весьма, если не полностью, сходны с происходящими в растениях. Таким образом, физиологически водоросли достаточно сложны.

Водоросли – самые многочисленные, самые важные для планеты и шире всего распространенные фотосинтезирующие организмы. Их много повсюду – в пресных водах, на суше и в морях, чего нельзя сказать, например, о печеночниках, мхах, папоротниковидных или семенных растениях. Невооруженным глазом водоросли часто можно наблюдать в виде мелких или крупных пятен зеленой или иначе окрашенной пены («тины») на поверхности воды. На почве или древесных стволах они обычно выглядят как зеленая или сине-зеленая слизь. В море слоевища крупных водорослей (макрофитов) напоминают красные, бурые и желтые блестящие листья различной формы.

Биоиндикация качества воды с использованием водорослей. В качестве индикаторов загрязнения воды органическими веществами наряду с другими организмами используются водоросли.

Первый этап изучения – наблюдения в природе, на берегу водоема. Следует оценить:

- 1) проточность водоема;
- 2) наличие прибрежных или водных зарослей высших растений (то есть имеющих листья и корни – стебли могут быть незаметными);
- 3) зарастание водоема водорослями, появляющимися на поверхности воды в виде «тины»;

4) водоросли, прикрепленные ко дну или подводным предметам;
5) окраску воды, то есть наличие «цветения» воды. При «цветении» вода приобретает либо ярко-зеленый цвет (развитие зеленых водорослей), либо серовато-сине-зеленую окраску (развитие сине-зеленых водорослей). «Цветение» воды возникает обычно, когда в одном литре воды насчитывается несколько миллионов клеток.

Второй этап изучения – сбор материалов для лабораторного исследования (сбор водорослей). В водоеме водоросли поселяются в трех местобитаниях:

- 1) в толще воды (планктон);
- 2) на дне водоема (бентос);
- 3) на поверхности погруженных в воду предметов (перифитон).

Прежде всего, необходимо осмотреть водоем и его дно и обнаружить наличие бентоса в виде разрастаний водорослей – «тины», хлопьев или отдельных нитей, собрать их в баночку. Если бентос не заметен макроскопически, но дно покрыто илом, то с помощью пипетки или стеклянной трубочки надо втянуть небольшое количество ила и тоже поместить в баночку. Хорошим объектом для изучения бентоса являются хлопья, плывущие по поверхности воды: это кусочки бентоса, поднятые со дна водоема выделенным водорослями кислородом.

Перифитон может быть представлен либо обрастаниями из крупных водорослей – до 0,5 м длиной, либо микроскопическими налетами, которые можно соскоблить ножом. При наличии в воде высших растений можно сделать «выжимку» из листьев, на которых всегда есть водоросли-эпифиты.

Сложнее сбор фитопланктона. Только в случае «цветения» воды, когда водорослей очень много, можно смотреть планктон в натуральной воде. В большинстве случаев планктон приходится концентрировать. Для этого используются либо специальная планктонная сеть с ячейками < 5 мкм (такую трудно сделать), либо отстойный метод: зачерпывается 0,5 л воды, помещается в бутылку и фиксируется 40 %-ным раствором формалина до появления его устойчивого запаха (обычно достаточно 2 мл формалина). Вода отстаивается 15–20 дней, планктон в это время осаждается, и воду отсасывают из середины бутылки сифоном, при этом планктон остается на дне. Для анализа берут каплю планктона и исследуют под микроскопом. Все пробы должны быть снабжены этикетками с указанием даты, места сбора и фамилии коллектора.

Третий этап работы – изучение и оценка собранного материала. Большинство водорослей – либо микроскопические организмы, либо требуют микроскопического изучения для уточнения строения. Предварительно пре-

параты из собранных водорослей просматриваются с помощью стереоскопической лупы, а затем – микроскопа. Определяется состав видов водорослей или видовое разнообразие, обилие отдельных видов, виды-индикаторы. Нужен микроскоп с увеличением минимум *200 (10*20), лучше *400 (10*40). Желательно иметь определители водорослей.

Биоиндикация качества воды с использованием водорослей. Сегодня биоиндикация является обязательным элементом системы оценки и контроля качества воды. Благодаря простоте, оперативности и доступности биотестирование получило широкое признание во всем мире и его все чаще используют наряду с методами аналитической химии.

В качестве индикаторов загрязнения воды органическими веществами используются водоросли. Разработана специальная шкала, позволяющая по составу водорослей оценить степень органического загрязнения: одни живут только в чистых водах и не терпят загрязнения, другие обитают в условиях умеренного загрязнения, а третьи предпочитают загрязненную воду (табл. 7).

Таблица 7

Значимость водорослей (по Т. Я. Ашихминой)

Степень загрязнённости водоёма	Название водорослей
Чистые водоёмы	анабена, диатома
Умеренно загрязнённые	диатома, навикула, кладофора, улотрикс, спирогира, мелозира, сценедесмус, кластериум
Относительно чистые водоёмы	хламидомонада, навикула, кластериум
Сильно загрязнённые	хлорелла, эвглена зеленая

Биоиндикация качества воды по животному населению (индекс Майера).

Среди гидробионтов наиболее удачным и надежным биоиндикатором являются водные животные, особенно беспозвоночные (это связано с их продолжительностью жизненного цикла и оседлым образом жизни). Основу пресноводных беспозвоночных гидробионтов составляют личинки насекомых, которые, по сравнению с другими гидробионтами, отличаются повышенной чувствительностью к токсическим воздействиям и другим изменениям среды.

Чистые водоемы заселяют пресноводные моллюски, личинки веснянок, поденок, вислокрылок и ручейников, бокоплав. Они не выносят загрязнения и быстро исчезают из водоема, как только в него попадают сточные воды.

Умеренно загрязненные водоемы заселяют водяные ослики, личинки мошек (мокрецов), двустворчатые моллюски-шаровки, битинии, лужанки, личинки стрекоз и пиявки (большая ложноконская, малая ложноконская).

Чрезмерно загрязненные водоемы заселяют малощетинковые кольцецы (трубочники), личинки комара-звонца (могыли) и ильной мухи (крыска).

Данная методика подходит для любых типов водоемов. Она более простая и имеет большое преимущество – в ней не надо определять беспозвоночных с точностью до вида. Дает возможность быстро оценить состояние исследуемого водоема. Метод основан на том, что различные группы водных беспозвоночных приурочены к водоемам с определенной степенью загрязненности.

Эвглена зеленая. Одноклеточная водоросль. Обитает в небольших пресных водоемах. Передвигается с помощью жгутика (их может быть два), расположенного на переднем конце клетки. Благодаря наличию хлорофилла клетка способна к процессу фотосинтеза, что обеспечивает ее питание. Служит индикатором степени загрязнения воды, участвует в самоочищении водоема. По водоемам они распределились следующим образом (табл. 8).

Таблица 8

Индикаторы степени загрязнения водоема.

Ручей	Малый пруд
Чёрная планария	Пиявки
Малощетинковый червь	Катушки
Бокоплав	Малый прудовик
Дафния	Дафния
Личинка падёнки	Личинка подёнки
Личинка стрекозы	Личинка веснянки
Личинка веснянки	Личинка стрекозы
Личинка ручейника	Личинка комара звонца
Личинка жужелицы	Жук плавунец
Личинка жука	Водомерка
	Прудовая лягушка
	Бурая остромордая лягушка
	Серая остромордая лягушка
	Эвглена зелёная
	Ряска
	Осока

Растения. Ряска. Многолетняя трава семейства рясковых. Мелкое растение (длина листеца, листовидной пластинки, 2–3 мм). Обитает в пресных стоячих и медленно текущих водах. В основном плавает на поверхности. Имеет длинный корень, размножается ветвлением листеца. Служит пищей для водоплавающих птиц.

Осока. Многолетняя трава семейства осоковых. Распространены широко. Основной компонент болотных растительных сообществ. Цветут обычно весной.

В данной работе применен метод биоиндикации качества воды по животному населению.

Среди обнаруженных видов беспозвоночных животных, согласно методике Майера, отобраны виды-биоиндикаторы, и распределены в экологические группы (табл. 9).

Таблица 9

Группы беспозвоночных животных исследуемых водоемов

Исследуемые водоёмы	Обитатели чистой воды	Организмы средней чувствительности	Обитатели грязных вод
Ручей	личинки поденок	личинки стрекозы	чёрная планария
	личинки веснянок		малощетинковые черви
	личинки ручейников		малый прудовик
	бокоплав		личинки комара-звонца
Пруд	личинки веснянок	катушки	пиявки
	личинки подёнок		

Ход работы.

Отбор проб производился во время комплексной образовательной экспедиции, отобранные образцы помещены в стерильные колбы. Обработку проб и определение водорослей проводили в лаборатории при помощи серии определителей пресноводных водорослей. Определение видового состава водорослей проводилось по микроскопе методом раздавленной капли под увеличением: 15x4; 15x10; 15x30. Также произведено фотографирование всех выявленных видов.

На предметное стекло с помощью пипетки наносят каплю исследуемой пробы, сверху помещают покровное стекло. Предметное стекло с исследуемым материалом помещают под микроскоп и производят учет организмов. Полученные результаты вписать в таблицы и обсчитать в соответствии с указанными примерами. Сделать выводы по чистоте или загрязненности водоема.

Примеры для обработки результатов:

- 1) В ручье обнаружено 10 видов, из них 7 – биоиндикаторные; среди них:
 - 4 группы видов первой экологической группы («чисто»): (личинки поденок, личинки веснянок, личинки ручейников, бокоплав) $4 \text{ на } 3 = 12$
 - 1 группа видов второй группы («умеренное загрязнение»): (личинка стрекозы) $1 \text{ на } 2 = 2$

• 2 группы видов третьей группы («грязно») (прудовики, личинка комара-звонца, пиявка) 3 на 1 = 3

Индекс Майера = $12+2+2=17$, что соответствует воде второго класса качества, «чистая».

2) В малом пруду обнаружено 16 видов, из них 7 – биоиндикаторные, среди них:

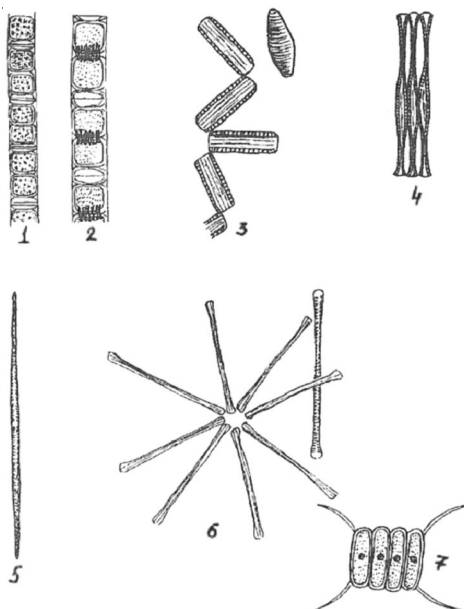
2 группы видов первой экологической группы («чисто»): (личинки поденок, личинки веснянок, личинки ручейников, бокоплав,) 2 на 3 = 6

• 2 группы видов второй группы («умеренное загрязнение»): (личинка стрекозы, катушки) 2 на 2 = 4

• 3 группы видов третьей группы («грязно») (пиявки, прудовики, личинка комара-звонца) 3 на 1 = 3

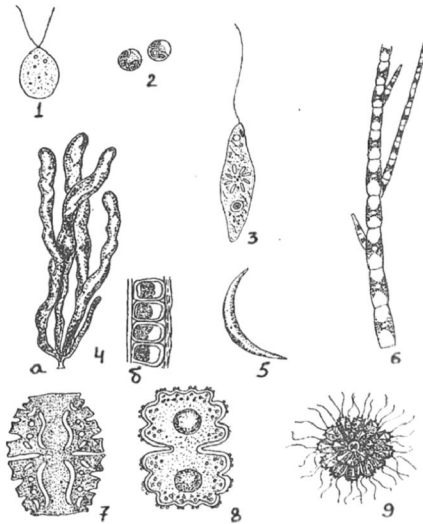
Индекс Майера = $6+4+3=13$, что соответствует воде третьего класса качества, «умеренно загрязненная».

ОПРЕДЕЛИТЕЛЬ



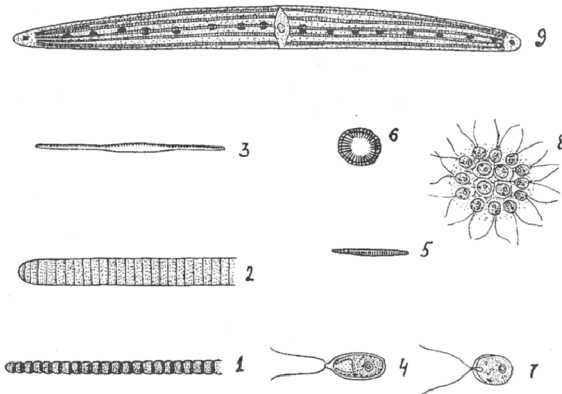
Бета-мезосапробные водоросли:

1 – мелозира зернистая, 2 – мелозира итальянская, 3 – диатома обыкновенная, 4 – фрагилария, 5 – синедра игольчатая, 6 – астрионелла стройная, 7 – сценедесмус четыреххвостый.



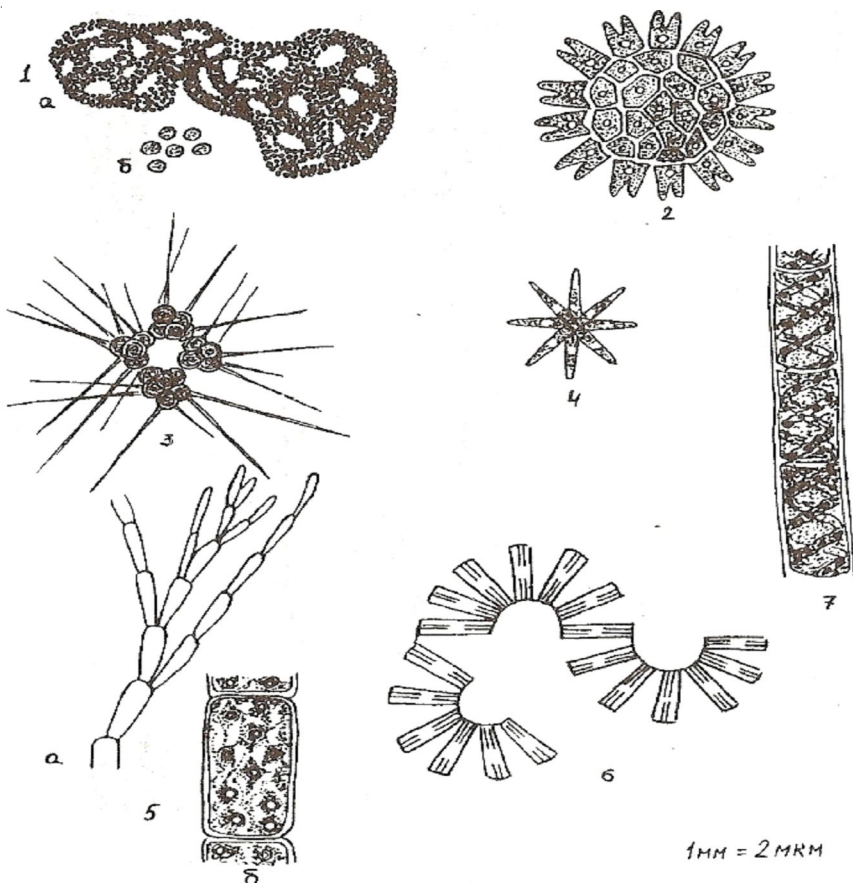
Полисапробные водоросли:

1 – политома, 2 – хлорелла, 3 – эвгена зеленая. Альфа-мезосапробные: 4 – энторморфа (кишечница), 5 – монорафидиум, 6 – стигеоклониум тонкий. Олигосапробные: 7 – микростериас, 8 – космариум, 9 – синура.



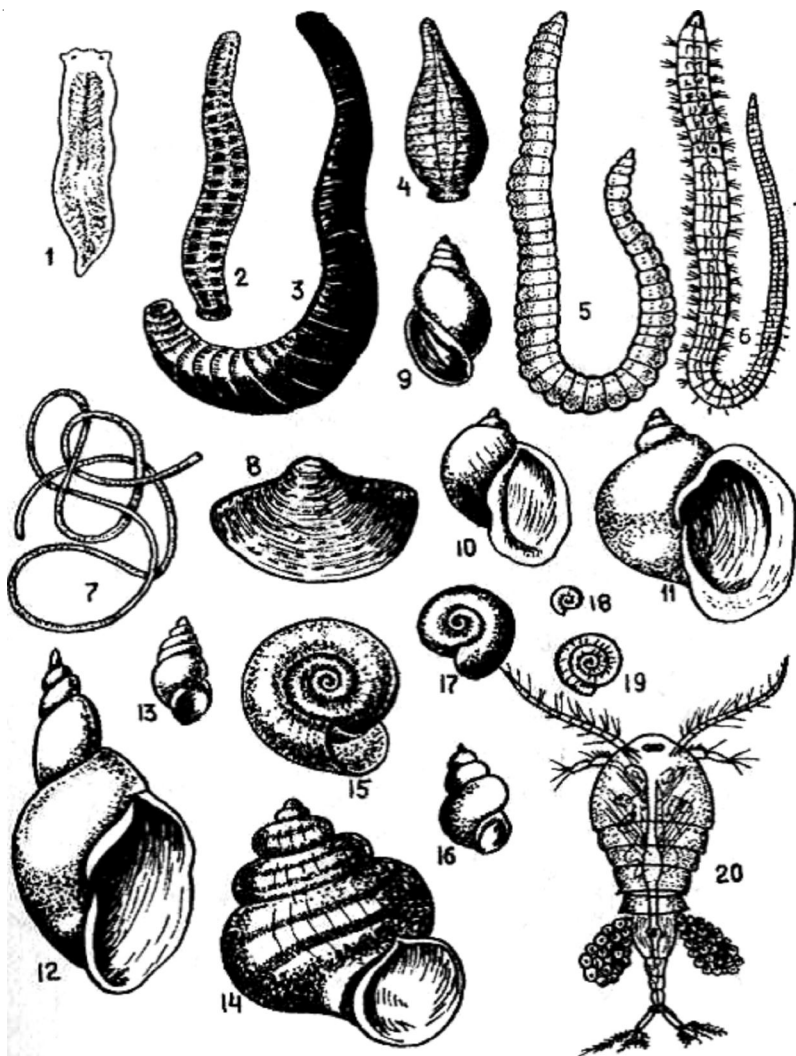
Альфа-мезосапробные водоросли:

1 – осциллятория короткая, 2 – осциллятория выдающаяся, 3 – нитцшия игловидная, 4 – хламидомонас, 5 – нитцшия пленочная, 6 – циклотелла менегини, 7 – хламидомонас атактогамный, 8 – гониум некторальный, 9 – кластериум игловатый.



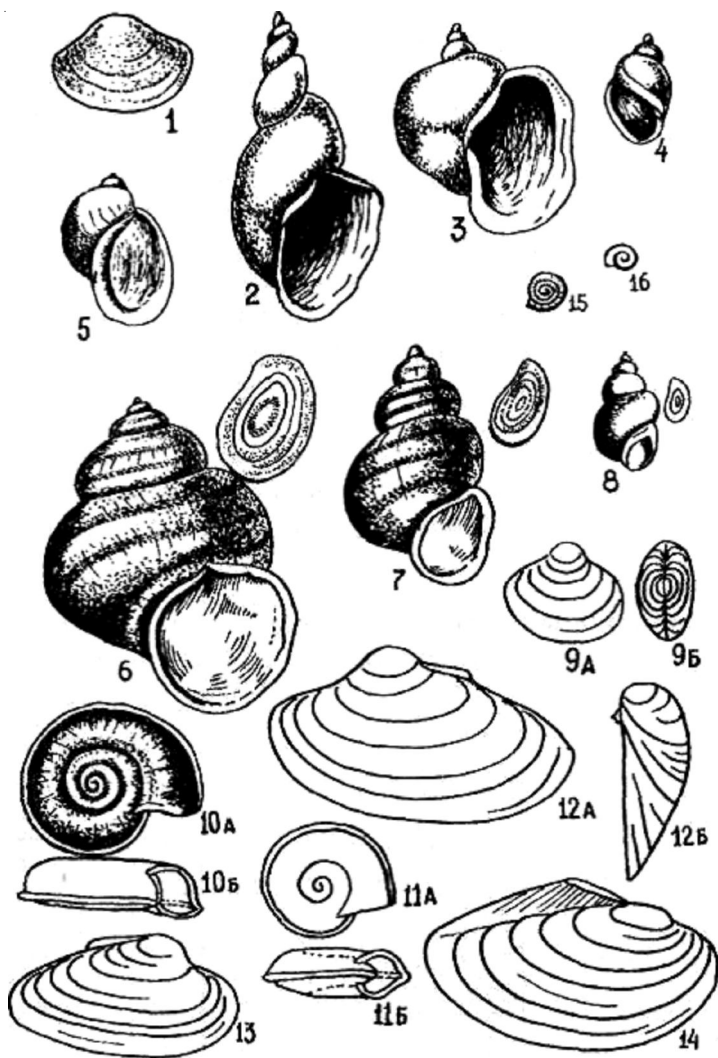
Бета-мезосапробные водоросли:

1 – микроцистис синеваго-зеленый, 2 – педиаструм, 3 – микрокитиниум, 4 – актинаструм, 5а – кладофора (общий вид), 5б – кладофора – одна клетка, 6 – табелария, 7 – спирогира.



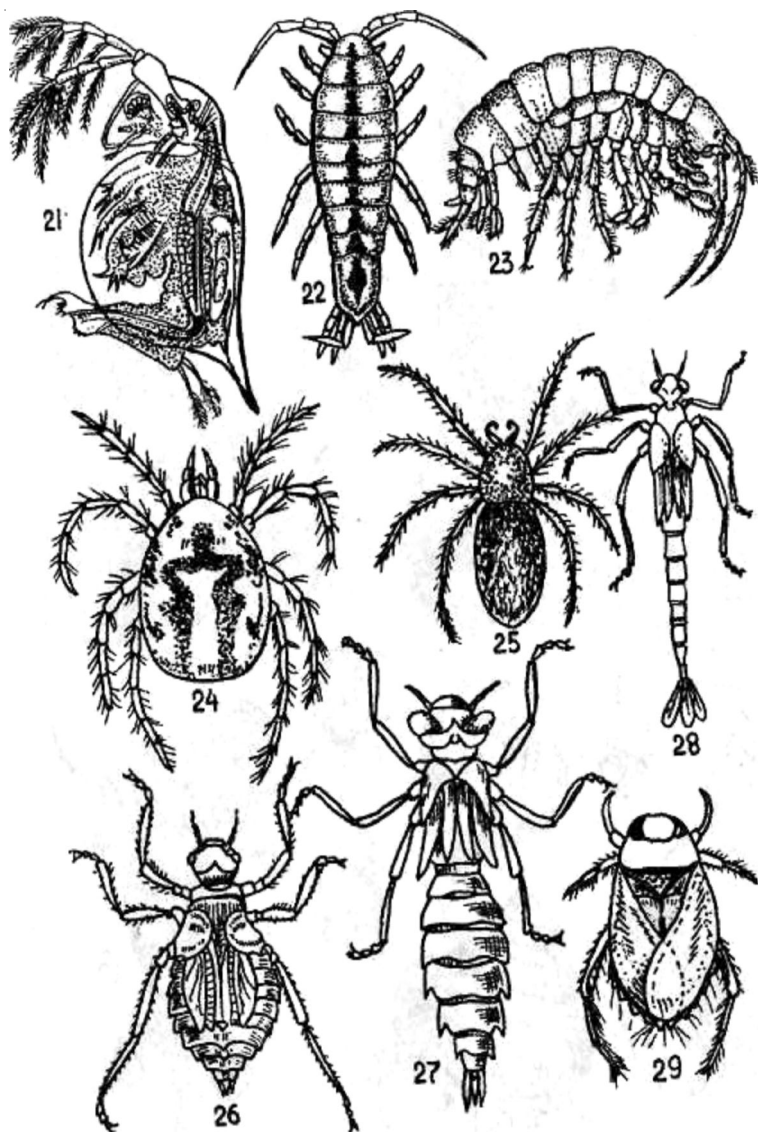
Животное население малых рек и озер:

1. Молочно-белая планария. 2. Малая ложноконская пиявка. 3. Ложноконская пиявка. 4. Улитковая пиявка. 5. Дождевой червь. 6. Трубочник. 7. Волосатик. 8. Шаровка. 9. Физа заостренная. 10. Яйцевидный прудовик. 11. Ушковый прудовик. 12. Обыкновенный прудовик. 13. Прудовик малый. 14. Лужанка настоящая. 15. Роговая катушка. 16. Битиния Щупальцевая. 17. Катушка килевая. 18. Катушка гладкая. 19. Катушка круговая. 20. Циклоп



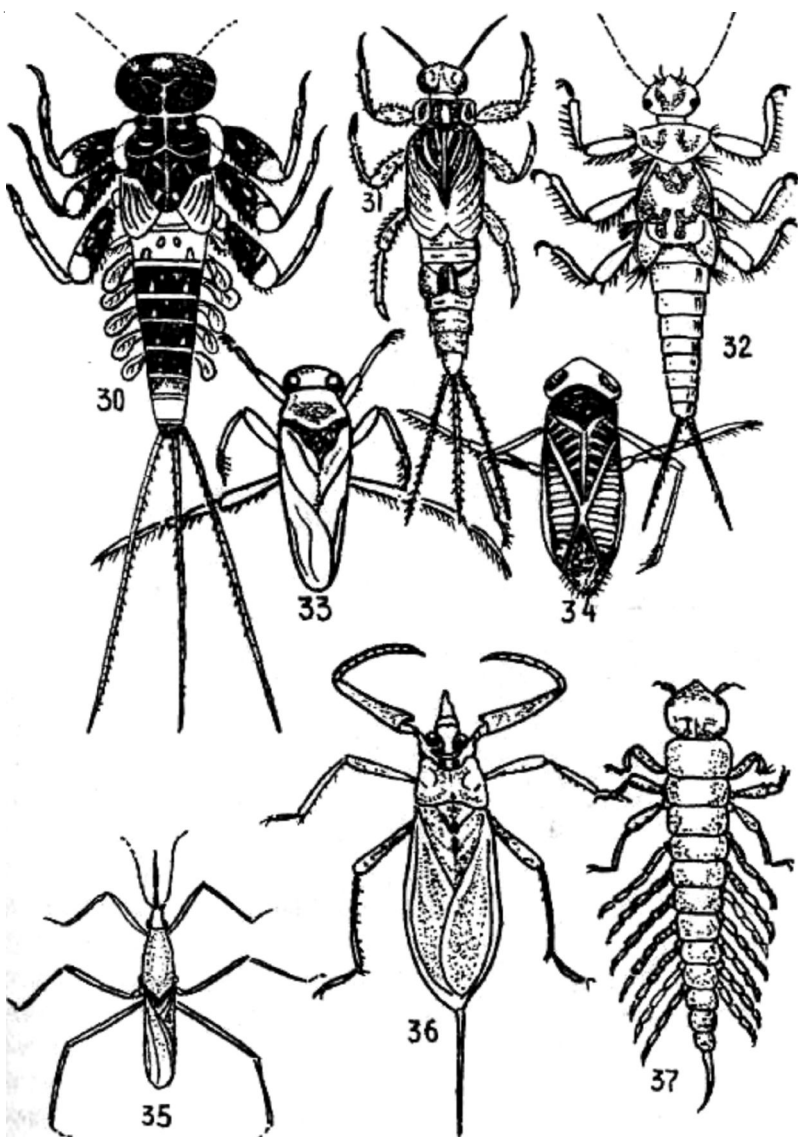
Пресноводные моллюски – биоиндикаторы чистоты водоема:

1. Роговая шаровка. 2. Прудовик обыкновенный. 3. Прудовик ушковый. 4. Физа ключевая. 5. Прудовик яйцевидный. 6. Лужанка настоящая. 7. Лужанка полосатая. 8. Битиния щупальцевая. 9а,б. Горошина. 10а,б. Катушка обыкновенная. 11а,б. Катушка килевая. 12а,б. Перловица вздутая. 13. Перловица живописцев. 14. Беззубка утиная. 15. Катушка завитая. 16. Катушка гладкая



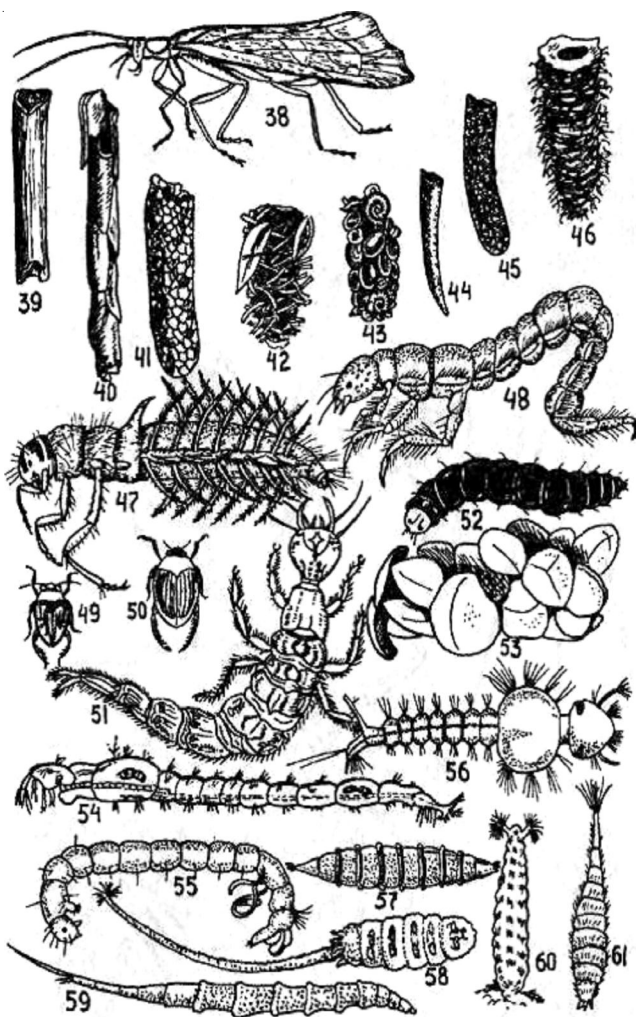
Животное население малых рек и озер

21. Дафния. 22. Водяной ослик. 23. Бокоплав. 24. Гидракарина ацеркус торрис.
 25. Водяной паук (самка). 26. Личинка настоящей стрекозы. 27. Личинка стрекозы
 коромысла. 28. Личинка стрекозы лютки. 29. Плавт



Животное население малых рек и озер

30. Личинка поденки. 31. Личинка поденки кенис макрура. 32. Личинка веснянки Перла маргината. 33. Гладыш (клоп). 34. Гребляк малый. 35. Водомерка панцирная. 36. Водяной скорпион. 37. Личинка вислокрылки с трахейными жабрами



Животное население малых рек и озер:

38. Ручейник. 39. Чехлик агрипнии. 40. Чехлик ручейника граммаулиуса.
 41. Чехлик стенофилакса. 42, 43, 46. Чехлик лимнофируса. 44. Чехлик колчанки.
 45. Чехлик стенофилакса ротундипенниса. 47. Личинка большого ручейника.
 48. Личинка ручейника, не строящая чехликов. 49. Пеструшка. 50. Желтушка.
 51. Личинка плавунца окаймленного. 52. Личинка бабочки ряской огневки.
 53. Чехлик из ряски. 54. Личинка комара коретры. 55. Личинка комара-дергуна.
 56. Личинка комара обыкновенного. 57. Личинка слепня. 58. Личинка иловой мухи.
 59. Птихоптера. 60. Личинка мокреца. 61. Личинка мухи-львинки

Контрольные вопросы

1. Водоросли их особенности и строение и участие в трофических связях.
2. Дайте определение биоиндикации.
3. Что входит в первый этап изучения водоема. Что входит во второй этап изучения водоема. Что входит в третий этап изучения водоема.
4. Указать значение водорослей по Т.Я. Ашихминой
5. Биоиндикация воды по животному населению (индекс Майера).
6. Перечислить экологические группы согласно методики Майера.
7. Дать оценку загрязненности исследуемого водоема.

РАБОТА № 7. МИКРОСКОПИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОДЫ

Цель работы: Изучить методики исследования микрофлоры воды. Определить общее количество микроорганизмов в воде. Оценить качество воды в санитарно-гигиеническом отношении.

Необходимое оборудование: 1) Стерильные чашки Петри; 2) Стерильные пробирки; 3) Стерильные пипетки; 4) Спиртовки; 5) Термостат; 6) Агаровая питательная среда; 7) Стерильная дистиллированная вода; 8) Резиновые груши со шлангом.

Теретическая часть: Степень микробного загрязнения воды важно учитывать в технологии пищевых продуктов. Вода, поступающая на производство, по качеству должна соответствовать санитарным нормам. Для контроля над санитарным состоянием воды регулярно проводят микробиологический анализ.

Водопроводную воду исследуют не реже одного раза в месяц, артезианскую – не реже одного раза в год, воду открытых водоемов и колодцев – ежедневно. Санитарный надзор за состоянием водоемов имеет большое значение для здоровья населения, поскольку возбудители таких инфекций, как брюшной тиф, дизентерия, холера, полиомиелит и многие другие не только способны сохраняться в воде, но и размножаться в ней.

Исследования микрофлоры воды. Водоемы содержат большое количество микроорганизмов: чистые воды рек – десятки и сотни тысяч, в загрязненных реках они исчисляются миллионами и даже миллиардами в 1 м³. Среди них находятся микроорганизмы, постоянно проживающие в этих водоемах, а также попадающие туда с осадками, сточными водами и другими загрязнениями. В воде встречаются представители самых разнообразных групп микроорганизмов – бактерий, актиномицеты, дрожжи и другие грибы, простейшие, водоросли. Количество и видовой состав мик-

рофлоры воды в значительной степени, зависит от условий среды, то есть от наличия питательных веществ, температуры, аэрации, рН и др.

Степень обсеменения воды организмами принято выражать сапробностью, под которой подразумевают совокупность живых существ, живущих в водах, содержащих большие скопления животных или растительных остатков. Различают три зоны. Полисапробная зона – сильно загрязненная вода, бедная кислородом и богатая органическими соединениями. Число бактерий в 1 мл достигает 1 млн и более; преобладает кишечная палочка и бактерии, вызывающие процессы гниения и брожения. В мезосапробной зоне (зона умеренного загрязнения) происходит минерализация органических веществ с интенсивным окислением и выраженной нитрификацией. Число бактерий в 1 мл составляет сотни тысяч; количество кишечной палочки значительно меньше. Олигосапробная зона характерна для чистой воды. Количество микробов незначительно, в 1 мл насчитывается несколько десятков или сотен; кишечная палочка отсутствует.

При изучении водной микрофлоры используют методы общего учета микробных тел, определяют основные биологические группы, а также выявляют представителей специфической микрофлоры и определяют видовой состав.

Отбор проб. При отборе проб необходимо учитывать, что некоторые обстоятельства могут создать неправильное представление о микрофлоре водоема. К ним относятся, например, неоднородность потоков в текучих водах, атмосферные осадки и паводки, смывающие в воду почву и нечистоты, близость населенных пунктов и промышленных предприятий, резкие колебания температуры и др. Кроме того, распределение микрофлоры по горизонтам резко варьирует, и для характеристики водоема следует брать несколько проб с различных глубин, начиная с глубины 10–15 см от поверхности, кончая придонными пробами на расстоянии 30 см от дна. При этом необходимо обеспечить стабильность взятия проб. Вся посуда для этого должна быть простерилизована, взятые пробы должны быть герметично закрыты до анализа и сохранять их следует при температуре +4 °С и не более 1–3 часов.

Воду наливают в посуду емкостью 0,5–1 л с ватно-марлевыми или притертыми стеклянными пробками, которые закрывают бумажными колпаками и завязывают у горловины. Пробы хлорированной водопроводной воды отбирают в склянки, в которые перед стерилизацией вносят 2 мл 1,5 % раствора гипосульфита натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. При взятии проб вода водопроводные краны предварительно стерилизуют, обжигая пламенем спиртовки, затем выпускают воду из крана в течение 10 мин, только после этого наполняют посуду.

Количественный учет микрофлоры воды. Из всех методов учета водной микрофлоры наибольшее распространение получил метод прямого счета, с помощью которого определяются все микроорганизмы, а не отдельные группы, которые способны прорасти лишь на определенных средах.

Метод Б. Л. Исаченко. На стекле очерчивают площадку 1 см². Стекло тщательно моют, сушат и после этого в центр квадратика наносят по капле 1 мл исследуемой воды. Для быстрого высыхания воды стекло помещают в термостат. Затем на препарат наносят немного спирта. Для закрепления микробов на стекле препарат заливают профильтрованным через ультрафильтр водным раствором агара 1:1000 и дают высохнуть. После окрашивания 3 %, раствором эритрозина на 5 % карболовой воде препарат промывают водой. Подсчет производят с помощью сетчатого микрометра, а если его нет, то используют окуляр-микрометр.

Метод фильтрации. Определенный объем исследуемой воды фильтруют при отрицательном давлении через специальные фильтры из нитроцеллюлозы, которые задерживают на своей поверхности микроорганизмы, находящиеся в воде. Количество этих микробов подсчитывают. Для количественного определения бактерий отфильтровывают определенный объем воды. Затем фильтр вынимают, высушивают и окрашивают. Микробов подсчитывают под микроскопом с помощью сетчатого микрометра. Воду артезианских колодцев отфильтровывают в количестве 50–100 мл, чистых озер – 10–20 мл, прудов 2–3 мл, сильно загрязненную воду разбавляют водой, предварительно проведенной через ультрафильтр.

Метод фазово-контрастной микроскопии. При большом содержании в воде взвешенных частиц количественный учет микроорганизмов представляет затруднения. Фазово-контрастное приспособление дает возможность подсчитать неокрашенные бактерии без всякой предварительной обработки, для лучшей видимости пользуются фильтрами, пропускающими зеленые лучи. Этот метод применяется для анализа вода, содержащей не менее 1 млн бактерий в 1 мл, так как в этом случае в поле зрения будет находиться 1 бактерия.

Метод пластинок обрастания. Этот метод основан на свойстве микробов прикрепляться и расселяться на поверхности погруженных в воду предметов, погруженные в воду стекла через некоторое время обрастают различными микроорганизмами.

Этот метод не может применяться при количественном учете микрофлоры водоемов, не пригоден для определения распространенности в водоемах тех или иных форм бактерий. В зависимости от задач исследования, стекла вынимают по прошествии определенного времени, высушивают,

фиксируют спиртом и окрашивают карболовым эритрозиним. После окраски препараты отмывают, высушивают и рассматривают под микроскопом.

Санитарно-гигиенический контроль воды. Присутствие в воде большого количества сапрофитов, способных развиваться на питательных средах, указывает на поступление в водоем органических веществ. Обнаружение же бактерий, встречающихся в кишечнике человека и животных, свидетельствует о загрязнении воды фекальными массами и различными отбросами. Общеизвестным показателем фекального загрязнения воды является кишечная палочка (*E. coli*) и родственные ей микроорганизмы. Присутствие этих бактерий в воде указывает на возможность нахождения в воде и таких патогенных бактерий, как возбудители тифа, дизентерии, холеры.

Прямое определение патогенных форм в воде представляет большие затруднения, поэтому для выяснения санитарного состояния водоемов пользуются косвенными показателями загрязнения воды болезнетворными микробами, то есть определением содержания в воде бактерий группы кишечной палочки.

Для выявления кишечной палочки и родственных ей бактерий используют ряд методов. Чаще всего производят высеивание на поверхность питательной среды. В случае работы в условиях очень загрязненного органическими отбросами водоема делают разведения и засевают из них пробы на питательные среды. Чашки ставят на 24 часа в термостат при 43°. После этого учитывают окрашенные колонии и из них делают препараты с определением по Грамму. Наличие грамм (-) неспорозисных палочек в окрашенных колониях подтверждает их принадлежность к группе кишечной палочки.

Для характеристики загрязнения водоемов подсчитывают коли-индекс и коли-титр. Коли-индекс – это количество кишечных бактерий, находящихся в 1 л воды. Коли-титр – количество мл воды, в котором содержится одна бактерия. Для пересчета коли-титра в коли-индекс 1000 делят на показатель коли-титра. Для перевода коли-индекса в коли-титр 1000 делят на число, выражающее коли-индекс.

По ГОСТ 2874–54 для питьевой водопроводной воды, прошедшей очистку, коли-титр не должен быть ниже 300, а коли-индекс – не более 3. Общее количество микроорганизмов не должно превышать 100 клеток в мл.

Ход работы:

1) В стерильную пробирку производят отбор пробы водопроводной воды из крана.

2) Готовят разведения анализируемой пробы воды. Для этого в несколько пробирок наливают по 9 мл стерильной дистиллированной

воды. В первую пробирку стерильной пипеткой добавляют 1 мл исследуемой воды и получают разведение 1:10. После тщательного встряхивания 1 мл воды из этой пробирки переносят во вторую (разведение 1:100), из второй – в третью и т. д. Для приготовления каждого разведения пользуются отдельной пипеткой. Чем более загрязнена вода, тем больше готовят разведений.

3) 3 стерильные чашки Петри, слегка приподнимая их крышки, вносят по 1 мл из каждого разведения. В чашки наливают по 10–12 мл расплавленного и охлажденного до 45° питательного агара. Чашки закрывают, смешивают агар с водой и оставляют на столе до застывания агара. Посевы защищают от действия солнечных лучей, закрывая чашки бумагой. Одну чашку с посевом из каждого разведения помещают вверх дном в термостат при 37 °С, другую инкубируют при 20–22 °С, так как в воде могут быть микробы с различной оптимальной температурой роста.

4) По истечении 24 часов роста при 37 °С и 48 часов при 20 °С производят подсчет выросших колоний в глубине и на поверхности агара. Количество микроорганизмов в 1 мл исследуемого образца воды определяют, подсчитав колонии, выросшие на агаре, и умножив их на степень разведения. Подсчет осуществляется без снятия крышки с чашки Петри, для удобства подсчитанные колонии отмечаются точкой на наружной стороне дна чашки, пользуясь восковым карандашом. При густом посеве (большое количество колоний) дно чашки делят на равные по площади секторы. Подсчитывают количество колоний нескольких секторов, определяют среднее число колоний на одном секторе и умножают на количество секторов – получают число колоний, выросших на чашке.

5) Делают вывод о количестве бактерий в водопроводной воде, ее санитарно-гигиеническом состоянии в соответствии с ГОСТ 2874–34.

Контрольные вопросы

1. Какие водные объекты и почему должны быть подвергнуты анализу в микробиологической лаборатории?

2. Перечислите методы, используемые при санитарно-гигиеническом исследовании воды?

3. Как производится отбор проб воды для анализа микрофлоры?

4. Какие методы используются для общего учета микрофлоры воды?

5. Какие показатели характеризуют степень загрязнения воды?

6. Какой из микроорганизмов является санитарно-показательным?

7. Расскажите методику обнаружения микробов рода кишечной палочки.

8. Какая вода считается пригодной для пищевых целей?

РАБОТА №8. ОПРЕДЕЛЕНИЕ рН ОТКРЫТЫХ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ

Цель занятий: Знакомство с законодательными документами, положенными в основу гигиенического нормирования в области гигиены водоснабжения: СанПиН 2.1.4.1074–01 для централизованного водоснабжения и СанПиН 2.1.4.1175–02 для децентрализованного (местного) водоснабжения, правилами выбора источников водоснабжения, организации зон санитарной охраны водопроводов и источников водоснабжения, физическими, органолептическими, химическими и бактериологическими показателями качества воды. Научиться анализировать питьевую воду на соответствие ее основным гигиеническим требованиям СанПиН путем решения ситуационных задач. Научиться давать развернутое гигиеническое заключение о пригодности исследуемого образца воды для хозяйственно-питьевых целей.

Необходимое оборудование: 1) Штатив с 5–6 пробирками; 2) Воронки – 2 штуки; 3) Эталонные растворы; 4) Стаканчики по 200 мл – 4шт; 5) Проба воды поверхностные грунтовые, сточные; 6) Бумажные фильтры, диаметром 10–12 см. 7) Дистиллированная вода без CO_2 . Оксид углерода удаляется из воды кипячением ее в течение 5 минут. 8) Универсальный индикатор или наиболее распространенные индикаторы в лабораторной практике. 9) рН метр.

Теоретическая часть. Данный показатель является индикатором загрязнения открытых водоемов при выпуске в них кислых или щелочных сточных вод. В результате происходящих в воде химических и биологических процессов и потерь уголекислоты рН воды может быстро изменяться, и этот показатель следует определять сразу же после отбора пробы, желательно на месте отбора. Точное значение рН перехода для большинства индикаторов несколько зависит от *ионной силы* раствора. Так, значение рН перехода, определяемое при $I=0,1$ (напр., раствор *хлоридов* натрия или калия) отличается от точки перехода в растворе с $I=0,5$ или $I=0,0025$ на $0,15 \dots 0,25$ единицы рН. В подобных случаях применяют универсальный индикатор. Ампула сухой смеси индикатора растворяется в 100 мл 80 %-ного этилового спирта. Также применяют бумажный универсальный индикатор. Универсальная индикаторная бумага содержит комбинацию индикаторов: синий бромтимоловый; картазол желтый; бромкрезоловый зеленый; бромксиленовый синий; бромтимоловый синий. Универсальный индикатор последовательно меняет цвет с красного через желтый, зеленый, синий до фиолетового при переходе из кислой области в щелочную. Индикатор изменяет окраску в интервале рН 1,0–10,0 (табл. 10).

Для грубой оценки концентрации водородных ионов широко используются кислотно-основные индикаторы – органические вещества-красители, цвет которых зависит от рН среды. К наиболее известным индикаторам принадлежат лакмус, фенолфталеин, метиловый оранжевый (метиловый оранжевый) и другие. Индикаторы способны существовать в двух противоположных формах – либо в кислотной, либо в основной. Изменение цвета каждого индикатора происходит в своем интервале кислотности, обычно составляющем 1–2 единицы (табл. 11).

Их преимуществом является дешевизна, быстрота и наглядность исследования. Этот метод недостаточно точен, требует введения солевых и температурных поправок, дает значительную погрешность при очень малой минерализации исследуемой воды (менее 30 мг/л) и при определении рН окрашенных и мутных вод. Метод нельзя применять для сред, содержащих сильные окислители или восстановители. Используется обычно в полевых условиях и для ориентировочных определений.

Таблица 10

**Изменение цвета универсального индикатора
в зависимости от рН раствора**

рН	Окраска	рН	Окраска
1,0	красно - фиолетовая	6,0	зеленовато - жёлтая
2,0	розово - оранжевая	7,0	жёлто - зелёная
3,0	оранжевая	8,0	зелёная
4,0	жёлто - оранжевая	9,0	сине - зелёная
5,0	оранжевая	10,0	серовато - синяя

Таблица 11

**Изменение цвета кислотно-основных индикаторов
в зависимости от рН раствора**

Название	Цвет индикатора в среде		
	Кислая $[H^+] > [OH^-]$ $pH < 7$	Нейтральная $[H^+] = [OH^-]$ $pH = 7$	Щелочная $[OH^-] > [H^+]$ $pH > 7$
Лакмус	красный	фиолетовый	синий
Фенолфталеин	бесцветный	бесцветный	малиновый
Метиловый оранжевый	розовый	оранжевый	желтый

Несмотря на то, что показатель рН может быть измерен посредством изменения цвета некоторыми индикаторами, непрерывный процесс мониторинга и контроля рН требует более сложного подхода. Наиболее распространенным подходом является использование специаль-

ных электродов – стеклянного и хлорсеребряного электрода сравнения, погруженных в исследуемый раствор. Электроды соединяются с рН-метром: электрический сигнал с них поступает в прибор. Между стеклянным электродом и электродом сравнения возникает разность потенциалов, пропорциональная водородному показателю:

Устройство и принцип действия рН электродов является очень сложной темой, поэтому здесь мы ее рассмотрим вкратце. Вам важно знать, что эти два электрода генерируют напряжение, прямопропорциональное показателю рН раствора. В нейтральной среде ($\text{pH} = 7$), напряжение между электродами будет равно нулю. В кислотной среде ($\text{pH} < 7$), произведенное электродами напряжение будет одной полярности, а в щелочной среде ($\text{pH} > 7$) его полярность будет противоположна. На рисунке ниже представлено устройство измерительного электрода. Обратите внимание на тонкую, легированную литием стеклянную мембрану, с помощью которой генерируется рН напряжение:

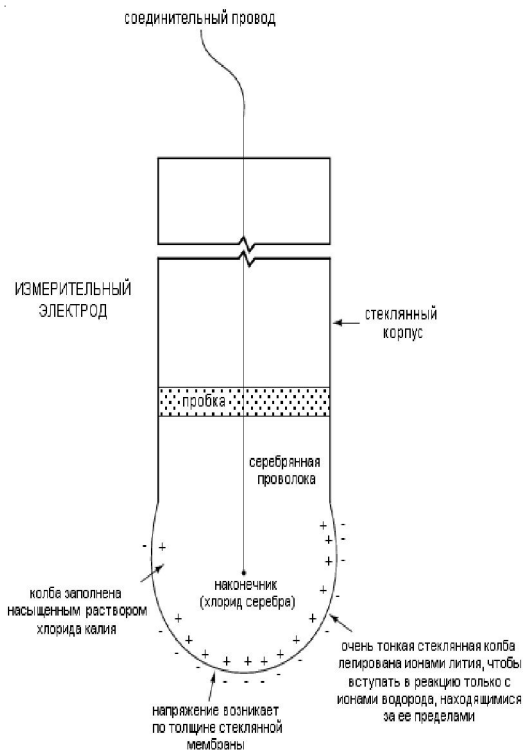


Рис. 5. рН-электрод

Подобным прибором можно производить замеры пробы воды: речные (разные створы одной реки), грунтовые, водопродные, подземные, по возможности, дождевые.

Исследование химического состава воды. Вода различных источников отличается известным постоянством. Появление в воде водоисточника новых соединений или повышение концентрации содержащихся в ней солей указывает на возможное загрязнение его за счет спуска промышленных, сельскохозяйственных или бытовых сточных вод.

Вода хозяйственно-питьевого назначения отвечает гигиеническим требованиям, если она имеет постоянный химический состав, концентрации минеральных и органических веществ не превышают предельно допустимых, нет косвенных показателей ее загрязнения, отсутствуют ядовитые вещества.

Определение рН воды. Реакция воды обусловлена концентрацией водородных ионов и обозначается символом рН (водородный показатель). С целью получения ориентировочного представления о химическом составе воды в ней предварительно определяют реакцию, или ее кислотность и щелочность.

Природная вода обычно имеет слабощелочную реакцию. Увеличение щелочности указывает на загрязнение ее или цветение водоема. Кислая реакция воды отмечается при наличии гуминовых веществ или проникновении промышленных сточных вод. Активная реакция (рН) питьевой воды должна быть 6,0–9,0. Для определения рН воды пользуются специальным прибором – ионометром, шкала которого проградуирована в единицах рН.

В химически чистой воде концентрации обоих ионов равны: $\text{pH} = 7$. В природных растворах равновесие обычно нарушается. При наличии в растворе кислот значение рН снижаются (меньше 7), соответственно при преобладании в растворе щелочей значения рН располагаются в промежутке от 7 до 14.

Водородный показатель играет важную роль в определении качества воды. В речных водах его значения обычно колеблются от 6,5 до 8,5, в атмосферных осадках – от 4,6 до 6,1, в болотных водах – от 5,5 до 6, в воде океана – от 7,9 до 8,3, в шахтах и рудничных водах иногда достигает 1, а в воде содовых озер и термальных источников – 10. Концентрации ионов водорода подвержены и сезонным колебаниям – зимой в большинстве рек они составляют 6,8–7,4, летом – 7,4–8,2.

Концентрация ионов водорода во многом определяет химические и биологические процессы в природных водах. От величины водородного показателя зависит жизнедеятельность водных растений, устойчивость форм

миграции элементов, степень агрессивности воды по отношению к металлам, бетону. Кислотность растворов оказывает существенное влияние на направление и скорость химических процессов в природных средах.

Ход работы:

1. Отбирают образцы свежей пробы воды: речные (разные створы одной реки), грунтовые, водопродные, подземные, по возможности, дождевые.

2. Отмеряют 5 мл воды в пробирку и прибавляют одну или две капли универсального индикатора.

3. Пробирку встряхивают до равномерного распределения появившейся окраски. Густота развившейся окраски исследуемого образца, диаметр, цвет стекла пробирки должны соответствовать эталонам шкалы сравнения.

4. С помощью компаратора или на фоне листа белой бумаги полученную окраску водной почвенной вытяжки сравнивают с эталоном шкалы Алямовского Н.И. Пробы не должны быть мутными и окрашенными водорастворимой природной органикой.

Точность определений колориметрическим методом составляет 0,1 единицы рН.

Контрольные вопросы

1. Что выражает собой водородный показатель водоема.
2. Чем обусловлена реакция концентрации ионов.
3. Каковы значения рН в пресных водоемах.
4. Что влияет на водородный показатель открытых водоемов.
5. Какими способами и методами производят замеры рН.
6. Каково влияние кислорода на показатели рН.
7. Как изменяется окраска универсального индикатора в зависимости от рН.
8. Перечислите изменение цвета кислотно-основных индикаторов в зависимости от рН раствора

РАЗДЕЛ 3. МОНИТОРИНГ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА

РАБОТА №9. КОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ рН ВОДНЫХ ВЫТЯЖЕК ПОЧВЕННЫХ ГОРИЗОНТОВ

Цель занятий: Освоение метода приготовления почвенной вытяжки и работа с полученным материалом.

Необходимое оборудование: 1) Колбы, объемом 50 и 250 мл; 2) 2 штатив с 5–6 пробирками; 3) воронки – 2; 4) фарфоровая ступка с пести-

ком; 5) весы технические с разновесами; 6) шкала эталонов; 7) капельница; 8) пипетка 5 мл.; 9) Универсальный индикатор; 10) Ампула сухой смеси индикаторов растворяется в 100 мл 80 %-ного этилового спирта; 11) Дистиллированная вода без CO_2 . CO_2 удаляется из воды кипячением ее в течение 5 минут; 12) Бумажные фильтры, диаметром 10–12 см. 13) Образцы почв.

Теоретическая часть. Величины pH почвенных растворов изменяются от 3 до 9. Степень кислотности почв также является чрезвычайно важным показателем. Она определяет генетические особенности и производственные качества почв. Так, в кислых почвах отсутствуют хлориды, сульфаты, карбонаты, в нейтральных удерживаются карбонаты и следы сульфатов, в щелочных идет почвах накопление карбонатов, а также сульфатов и даже хлоридов. Для каждого вида растений свойственен узкий промежуток значений pH, при которых они хорошо развиваются.

Концентрация ионов водорода во многом определяет химические и биологические процессы в природных водах. От величины водородного показателя зависит жизнедеятельность растений, устойчивость форм миграции элементов, степень агрессивности. Кислотность растворов оказывает существенное влияние на направление и скорость химических процессов в природных средах. Зависимость ионного произведения воды (K_w) и pH от температуры раствора указана в таблице 12.

Таблица 12

**Зависимость ионного произведения воды (K_w)
и pH от температуры раствора**

Температура, °C	K_w , моль/дм	pH
10	$1,14 \cdot 10^{-10}$	7,97
18	$5,70 \cdot 10^{-10}$	7,12
25	$1,01 \cdot 10^{-14}$	7,00
50	$5,47 \cdot 10^{-14}$	6,63
100	$5,90 \cdot 10^{-14}$	6,12

В почвах различают активную, обменную и гидролитическую кислотность. Активная кислотность определяется содержанием свободных ионов водорода, то есть в водных растворах. Большая же часть ионов водорода находится в почвах в разной степени связанном состоянии. В этом случае кислотность можно рассматривать только как потенциальную (сумму обменной и гидролитической). Обменная кислотность определяется в солевой почвенной вытяжке с использованием раствора нейтральной соли (калий хлористый). Почти полное вытеснение поглощенных почвенным комплек-

сом ионов водорода достигается воздействием на почву раствором гидролитически щелочной соли, например уксуснокислым натрием. Таким образом, с переводом почвы в раствор можно оценить весь возможный его геохимический потенциал, то есть во всех состояниях и для любой почвы.

Ход работы.

1) Среднюю пробу почвы растирают в фарфоровой ступке пестиком и просеивают через сито с отверстием 1 мм.

2) Навеску 10 г почвы высыпают в колбу, объемом 250 мл, и заливают 50 мл (соотношение 1:5) дистиллированной воды без CO_2 .

3) Содержимое колбы взбалтывают в течение 5 минут и столько же отстаивают.

4) Водную вытяжку фильтруют через наиболее плотный бумажный фильтр «синяя лента».

5) Отмеряют 5 мл прозрачной водной вытяжки почвы в пробирку и прибавляют одну или две капли универсального индикатора. Пробирку встряхивают до равномерного распределения появившейся окраски. Густота развившейся окраски исследуемого образца, диаметр, цвет стекла пробирки должны соответствовать эталонам шкалы сравнения.

6) Затем с помощью компаратора или на фоне листа белой бумаги полученную окраску водной почвенной вытяжки сравнивают с эталоном шкалы Алямовского Н.И.

Пробы не должны быть мутными и окрашенными водорастворимой природной органикой. Точность определений колориметрическим методом составляет 0,1 единицы рН.

Контрольные вопросы

1. Оцените щелочно-кислотные свойства исследованных водных вытяжек почв, проб воды: кислая, слабокислая, нейтральная, слабощелочная, щелочная.

2. Объясните причины различий кислотно-щелочных условий в разных горизонтах почвенного разреза и водных средах. Возможные источники ионов водорода.

3. Поверхностные воды менее кислые, чем почвенные водные вытяжки? Какой почвенный горизонт по значениям рН, как правило, ближе к речным водам?

4. Какие ионы водорода по форме нахождения: активные или связанные в почвенном поглощающем комплексе, возможно определить в водной вытяжке?

5. Как соотносятся полученные экспериментальные сведения с литературными источниками?

РАБОТА №10. КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОРМ ПЕРЕГНОЯ В ПОЧВЕ

Цель занятий: Изучить и освоить методику определения различных форм гумуса в почве.

Необходимое оборудование: 1) Едкий натр, 1н раствор. 2) Кислота соляная (1:2). Один объем HCl смешивают с двумя такими же объемами дистиллированной воды. 3) Штатив с 4-мя пробирками. 4) Колбы на 250мл – 2шт. 5) Воронки – 4шт. 6) Пипетка на 2 мл. 7) Фильтры «синяя лента».

Теоретическая часть: Разные природные геохимические условия определяют разные соотношения основных форм почвенного перегноя: гуминовых кислот и их солей – гуматов, фулевокислот и фульватов. Почвенное органическое вещество с учетом разнообразия его состава, а также свойств: доли растворимых соединений, летучести, устойчивости к разрушению (деструкции), является одним из главных условий миграции химических элементов в окружающей среде.

Образование гуминовых и фульвокислот. Образование гумусовых веществ – сложный и длительный процесс, зависящий от множества факторов. Так, в основе формирования черноземов лежит дерновый процесс, который заключается в аккумуляции гумуса, биофильных элементов и образовании водопрочной структуры под действием травянистой растительности. Для гумусоаккумулятивного процесса в этих почвах складываются наиболее оптимальные условия:

- большое количество ежегодного опада, существенная часть которого поступает в почву в виде корневой системы растений;
- близкая к нейтральной реакция среды;
- высокая насыщенность минеральной части почвы кальцием и магнием;
- при периодически промывном водном режиме четко выраженная контрастность режима влажности;
- умеренная биологическая активность.

Немаловажна роль органического вещества в почвообразовании. Свежий опад трансформируется, подвергается минерализации и гумификации, в результате которой образуются новые молекулы гуминовых и не гуминовых соединений, которые также минерализуются, хотя и медленнее, чем свежий опад. Гумусовые вещества образуются в процессе трансформации компонентов опада, когда фенольные или хиноидные их составляющие формируют «центральное ядро», а алифатические – «боковые цепи».

Опад растительности черноземной зоны богат кальцием, что приводит к образованию в почвах биогенного кальция и к его миграции в форме гидрокарбоната, в результате процесс гумификации протекает при избыточном количестве солей кальция и сопровождается повышенным поглощением ионов кальция образующимися гумусовыми веществами, что фактически исключает формирование и вынос свободных водорастворимых продуктов. Так, в ландшафтах тайги, постоянно находящихся под воздействием поверхностных и грунтовых вод, накапливается много органического вещества. Вместе с ним идет накопление многих микроэлементов, свойственных данной геохимической среде:

1) болото (торф) – медь, свинец, молибден, цинк, кобальт, марганец, никель, ванадий, хром, стронций, германий, железо;

2) пойма (аллювий) железо, алюминий, марганец, ванадий, медь, никель, хром;

3) озеро (сапропель) – марганец, медь, кобальт, ванадий, цинк, железо.

Для избыточно влажных холодных и умеренно-холодных кислых лесных ландшафтов свойственна энергичная миграция меди, свинца, кальция, железа, бария, стронция (в составе перегноя преобладают фульвосоединения). В щелочной среде ландшафтов сухого климата (степи, пустыни) существуют благоприятные условия для миграции молибдена, хрома, селена, урана (преобладают гуминовые соединения).

Почти все современные экспериментальные данные подтверждают образование фулевокислот в ходе щелочного или кислотного гидролиза как органического вещества почвы, так и собственно гумусовыми кислотами или гуминам.

Модели строения гуминовых и фульвокислот. Гумусовые кислоты относятся к соединениям переменного состава, вследствие чего полную и однозначную их структурную формулу вывести невозможно. Следует отметить, что замена в молекуле гуминовой или фульвокислоте отдельных структурных фрагментов, боковых цепей и функциональных групп существенно не изменяет их свойства в целом.

В настоящее время существует несколько структурных формул гумусовых кислот, но все они имеют гипотетический характер, отражая в той или иной мере подробно накопленные экспериментальные данные.

Для выполнения лабораторной работы желательно подобрать образцы почв авто- и гидроморфных ландшафтов. Целесообразно также сравнительное изучение парных образцов из нижних горизонтов (В, С) и перегнойных верхних (Ad, A) одного почвенного разреза.

Содержание перегноя в разных типах почвы и соотношение форм водорастворимого органического вещества указаны в таблице 13.

Таблица 13

Содержание почвенного перегноя и соотношение форм водорастворимого органического вещества

Почвы	РН водной вытяжки	Содержание перегноя, %	$C_{\text{гв}}/C_{\text{фк}}$
Мерзлотно - подзолистые	3,0-4,8	1-3	0,1-0,4
Подзолистые	3,3-4,0	1-7	0,2-0,5
Дерново-подзолистые	3,5-5,2	3-7	0,3-0,8
Бурые лесные	6,0-6,5	3-7	0,3-0,7
Серые лесные	6,0-6,5	4-9	0,7-1,0
Чернозёмы	6,5-7,5	6-12	2.0-2.7
Каштановые	7,2-7,6	1,5-4	1,5-2,5
Серозёмы	8,1-8,5	1-3	1.0

Ход работы.

1. Навеску почвы 15 г высыпать в колбу емкостью 100 мл, добавить 30 мл дистиллированной воды. Содержимое колбы встряхивают в течение 3 минут, отстаивают крупную взвесь, затем фильтруют в пробирку в штативе. Фильтрат должен быть прозрачным. Оценивать окраску вытяжки в пробирке целесообразно сверху. Наличие желтой окраски свидетельствует о присутствии вода растворимого органического вещества – фульвокислот. Густота окраски находится в прямой зависимости от содержания фульвосоединений.

2. К тому же образцу, обработанному дистиллированной водой, прилить 30 мл 1н раствора едкого натра. Снова колбу встряхивают в течение 3 минут, отстаивают взвесь и затем фильтруют в пробирку в штативе (5–10 мл). Окраска полученной вытяжки бывает обычно коричневой, бурой, темно-бурой до черной.

3. К щелочной вытяжке прилить 2 мл HCl (1:2). Через некоторое время (чем гуще окраска, тем быстрее) растворимые только в щелочи гуминовые соединения, если они есть, коагулируют, образуя хлопья по всему объему вытяжки. По прошествии некоторого времени наиболее легкие фракции гуминовых кислот скапливаются у поверхности раствора, наиболее тяжелые опускаются на дно пробирки. По мере оседания хлопьев гуматов щелочная вытяжка светлеет, но окраска ее сохраняется. В прозрачном окрашенном растворе присутствуют растворимые в щелочи и в минеральной кислоте фульвокислоты и их соли.

4. После извлечения всей растворимой органики из почвенного образца на дне колбы можно наблюдать черное вещество гумин – наиболее устойчивую (химически инертную) часть перегноя.

Контрольные вопросы

1. Сделайте выводы о наличии и относительном количестве каждой из форм перегноя в исследованных горизонтах почвы, запишите их в тетрадь.

2. Чем обусловлена оставшаяся окраска нейтрализованной щелочной вытяжки.

3. Какие фульвосоединения преобладают в исследованных горизонтах почв: водо- или щелочнорастворимые

4. В каких почвах накапливается больше гуминовых соединений: в верхних горизонтах дерново-подзолистых или торфяных?

5. Влияет ли состав опада и степень его разложения на соотношение гуминовых и фульвосоединений?

РАБОТА № 11. ПРЕВРАЩЕНИЕ БЕЗАЗОТИСТЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ПОД ВЛИЯНИЕМ МИКРООРГАНИЗМОВ

Цель занятий: изучить возбудителей и продукты брожения на примере маслянокислого анаэробного разложения крахмала.

Необходимое оборудование: 1) Пробирки. 2) Пипетки. 3) Водяная баня. 4) Картофель. 5) 5 %-й раствор хлорида железа. 6) Раствор Люголя.

Теоретическая часть. Имеющиеся в природе углеродсодержащие вещества растительного и животного происхождения подвергаются микробиологическим превращениям. Микроорганизмы, в основном получают энергию при освобождении ее из безазотистых органических соединений. Только небольшая часть бактерий может использовать солнечную энергию или энергию окисления минеральных соединений.

В зависимости от того, как освобождается энергия из энергетического материала, различают брожение (освобождение энергии, происходящее без доступа свободного кислорода), и дыхание (или окисление) – выделение энергии в аэробных условиях. В последнем случае энергия освобождается полностью и в качестве конечного продукта окисления выделяются двуокись углерода и вода.

Брожение сопровождается частичным высвобождением энергии, связанной в энергетическом материале. Поэтому среди конечных продуктов всегда находят продукты неполного окисления, содержащие запа-

сы химической энергии – спирт, молочную, масляную кислоты и др. В зависимости от основного продукта, образующегося в ходе этих процессов, брожения получили соответствующие названия: спиртовое, молочнокислое, маслянокислое, уксуснокислое и др.

Брожение вызывается дрожжами, некоторыми видами бактерий и отдельными представителями грибов. Практическое значение имеют только дрожжи. Спиртовое брожение лежит в основе винокурения, виноделия, пивоварения, хлебопечения.

Молочнокислое брожение. Оно лежит в основе силосования, квашения овощей, переработки молока в кисломолочные продукты и сыр, кислый вкус хлеба определяется молочной кислотой. Это брожение вызывается группой молочнокислых бактерий, которая очень разнообразна и широко распространена в природе.

Маслянокислое брожение – это превращение углеводов с образованием масляной кислоты; производится облигатно анаэробными спорообразующими палочками, относящимися к роду *Stoxidium*. Помимо масляной кислоты в процессе брожения в заметных количествах образуется уксусная кислота, а при смещении реакции в кислую сторону (до pH 5,5) в больших количествах – бутиловый спирт и ацетон.

Типичный представитель маслянокислых бактерий – *cl.butyricum* крупная палочка (1–2 x 10 мкм). В молодом состоянии она подвижна; на более поздних стадиях развития теряет жгутики, приобретает веретенообразную форму и накапливает внутри клетки запасное питательное вещество – полисахарид гранулы. При образовании споры клетка приобретает вид веретена.

В природе «маслянокислое брожение» имеет большое значение как звено в цепи превращений соединений углерода. В то же время в ряде производств маслянокислые бактерии могут наносить значительный ущерб, вызывая вспучивание сыров, прогоркание молока, порчу консервов, овощей, картофеля и других продуктов.

Ход работы.

1. Маслянокислое брожение. Для изучения маслянокислого брожения крахмала опыт ставят с картофелем. Сырой неочищенный картофель нарезают мелкими кубиками, заполняют ими 1/3 высокой пробирки, добавляют немного мела (для нейтрализации масляной кислоты), заливают водопроводной водой на 2/3 и помещают водяную баню при температуре 80° на 10 мин (пастеризация). Споры маслянокислых бактерий имеются на коже картофеля. Через 2–3 дня картофель всплывает наверх, вследствие бурно идущего газообразования. Культуральную жидкость используют для микропирования маслянокислых бактерий и качественного определения продуктов брожения.

2. Микроскопия. Микроскопическое изучение маслянокислых бактерий проводят в раздавленной капле. Питательную среду из пробирки с картофелем берут из среднего слоя сброженной жидкости, наносят каплю на предметное стекло. К культуре добавляют каплю раствора Люголя и покрывают покровным стеклом, на которое помещают каплю кедрового масла. При микроскопировании препарата обнаруживаются клетки *cl. butyricum* – крупные подвижные палочки со слегка заостренными концами. Споры имеют форму веретена. Обычно обнаруживаются *cl. butyricum* – крупная палочка, форма которой может меняться – раздуваться в середине (и принимать форму веретена) или на конце (и приобретать булавовидную форму). В расширенной части клетки заключены споры. Споры – овальные тельца, сильно преломляющие свет. В тех местах, где содержится гранулеза, возникает синее окрашивание. Зарисовывают только окрашенные клетки, явно относящиеся к группе маслянокислых бактерий.

3. Проведение качественной реакции на масляную кислоту. Нейтральные растворы маслянокислых солей при нагревании с хлористым железом приобретают коричневое окрашивание вследствие образования маслянокислого железа.

Для проведения этой реакции в пробирку наливают 3–5 мл сброженной жидкости, добавляют 1–2 мл 5 %-го хлористого железа и нагревают на пламени. Раствор маслянокислого железа в отраженном свете приобретает буровато-коричневую окраску, а в проходящем свете – кроваво-красную.

Контрольные вопросы

1. Назовите основные источники энергии микроорганизмов.
2. В чем отличие процессов брожения и дыхания? В чем их сходство?
3. Назовите основные типы брожения, чем они отличаются?
4. Напишите уравнения реакций спиртового, молочнокислого и маслянокислого брожений.
5. Какие микроорганизмы осуществляют маслянокислое брожение?
6. Охарактеризуйте распространение процессов брожения в природе.
7. Опишите методику качественной реакции на масляную кислоту.
8. Как отличить возбудителей рода *Clostridium* при микроскопии?

РАБОТА № 12. ВЫДЕЛЕНИЕ ПОЧВЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Цель занятий: Изучить методики исследования микрофлоры почвы. Определить общее количество микроорганизмов в почве.

Необходимое оборудование: 1) колба на 250 мл со 100 мл стерильной воды; 2) пробирки, содержащие по 10 мл стерильной воды, для приготовления разведения (количество необходимых пробирок определяется тем, какое последнее разведение необходимо приготовить для посева, обычно берут 2–3 пробирки); 3) стерильные пипетки на 1 мл.; 4) стерильные шпатели, по одному на каждое разведение; 5) стерильные чашки Петри; 6) стерильные среды;

Теоретическая часть. Универсальным инструментом для производства посевов является бактериальная петля. Кроме нее, для посева уколом применяют специальную бактериальную иглу, а для посева на чашках Петри – металлические или стеклянные шпатели. Для посевов жидких материалов наряду с петлей используют пастеровские и градуированные пипетки.

Выращивание микроорганизмов на питательных средах называется **культивированием** (лат. *cultivare* – выращивание); развивавшиеся микроорганизмы – **культурой**. При развитии в жидкой среде культуры образуют суспензии, осадок или пленку; при развитии в плотной среде – колонии. Культуры могут быть **чистыми** (содержат потомство клеток одного вида микроорганизма). Внесение клеток микроорганизмов или какого-либо исследуемого материала (образца почвы, пробы воды) в стерильную питательную среду для получения чистой или накопительной культуры называется **посевом**. Перенесение уже выращенных клеток из одной среды в другую (стерильную) называется **пересевом или пассированием**.

Обычно микроорганизмы выращивают при определенной температуре в термостатах или термостатных комнатах. Культивирование при заданной температуре называется **инкубацией, или инкубированием** (лат. *incubation* – выращивание при искусственно созданной температуре).

При пересеве бактериальной культуры берут пробирку в левую руку, а правой, обхватив ватную пробку мизинцем и частью ладони, вынимают ее, пронося над пламенем горелки. Удерживая другими пальцами той же руки прокаленную, петлю, набирают ею посевной материал, после чего закрывают пробирку пробкой, обжигая в пламени спиртовки. Затем в пробирку со скошенным агаром вносят петлю с посевным материалом, опуская ее до конденсата в нижней части среды и зигзагообразным или прямым движением распределяют материал по скошенной поверхности агара. Вынув петлю, обжигают край пробирки и закрывают ее пробкой. Петлю стерилизуют в пламени спиртовки и ставят в штатив. Такой метод посева называется **посевом штрихом**. Посев в столбик питательной среды делают бактериальной иглой, вводя ее в центральную толщину – **посев уколом**.

Ход работы. Приготовление почвенной суспензии для посева и техника посева. При исследовании пробы почвы на микрофлору и посеве на чашки с питательной средой необходимо учитывать, что в ризосфере содержится в десятки и даже тысячи раз больше микроорганизмов, чем в окружающей почве, где не произрастают растения и не вносятся дополнительные питательные вещества, необходимые для роста сельскохозяйственных культур, поэтому для посева нужно пользоваться большими разведениями.

Корни, стерильно отделенные от растения, навеску корней с почвой на корнях (5–10 г) помещают в колбу со 100 мл стерильной воды и отмывают от почвы в течение 5 мин путем перемещения ее на качалке (180 об/мин). После отмывания корни вынимают из колбочки, слегка подсушивают между листами фильтровальной бумаги и измельчают. Затем отмытые корни помещают в сервильную ступку и измельчают. После минутного отстаивания суспензии готовят десятикратное разведение и производят посев. Прикорневая почва взвешивается 1 г на 100 мл стерильной воды и взбалтывается в течение 5 минут.

Посев на питательные среды микрофлоры почвы. Разведения делают по следующей схеме: посев проводится из разведений 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000, 1:100000 и т. д. в зависимости от группы учитываемых микроорганизмов, от типа почвы, сезона, влажности почвы. Наиболее точный подсчет получается, если на чашке развивается 50–200 колоний бактерий и актиномицетов и 30–50 колоний грибов. При слишком густом или слишком разреженном посеве подсчет количества микроорганизмов будет очень не точным.

При анализах почвы следует брать не менее 3–5 повторных образцов, при этом каждый из них высевается на 3–5 повторных чашек для каждой из сред. Из III-го, IV-го, V-го разведения последовательно набираются стерильными пипетками суспензии. Пипетку держат в правой руке, а левой рукой осторожно приоткрывают крышку чашки Петри с застывшей средой и вносят одну каплю суспензии. Затем проводят шпатель через пламя горелки, остужают его о внутреннюю сторону крышки и растирают посевной материал по всей поверхности среды. Такой способ посева называется посев «газоном».

После инкубации посева появляются равномерный сплошной рост микроорганизмов. «Засеянные» чашки Петри ставят в термостат при температуре 28 °С. После чего производится подсчет выросших колоний и исследование морфологических и культуральных свойств выделенных микроорганизмов.

Подсчет клеток микроорганизмов в почвенных образцах

$a \times 10^n M = \text{-----}$ в 1 мл почвенной суспензии V

$M = a \times 10^n$ в 1 г сырой почвы

$a \times 10^n M = \text{-----}$ в 1 г абсолютно сухой почвы 0,75

0,75 – при влажности почвы 25 % 1 г сырой почвы содержит 0,75 г абсолютно сухой почвы

20 – коэффициент перевода 0,05 мл в 1 мл ($0,05 \times 20 = 1$)

10^n – разведение, взятое для посева

a – число колоний, выросших на чашках

V – объем суспензии, взятой для посева (в мл)

Если используется глубинный посев, то расчет ведется по этой же формуле без коэффициента 20; если колонии выращены на бедных средах (нитратный агар, голодный агар), то определение количества микроорганизмов ведется в поле зрения микроскопа.

Контрольные вопросы

1. Что называется культивированием?
2. Чистые и накопительные культуры.
3. Что называется инкубацией?
4. Методика приготовления почвенной суспензии.
5. Как проводится посев почвенных разведений на твердую среду.
6. Как проводится посев штрихом и посев уколом
7. Из каких разведений производят посев.
8. Какой способ посева называют «газоном».

Образцы типовых ситуационных задач

Анализ воды № 1 (из колодца)

I. ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Прозрачность по шрифту Снеллена – свыше 30 см.

Цвет – бесцветная. Запах – без постороннего. Вкус – соленый.

Осадок – не обнаружен.

II. ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

pH – 7,3.

Окисляемость – 14 мг/л O_2 .

Аммиак – положит.

Нитриты – положит.

Нитраты – 186 мг/л.

Хлориды – 586 мг/л.

Сульфаты – 348 мг/л.

Железо – 170 мг/л.

Жесткость общая – 29,7 ‰

Жесткость устранимая – 12,5 ‰

Жесткость постоянная – 17,2 ‰

III. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Коли-титр – 86,0

Микробное число (счет колоний) – 615

Решить задачу и дать развернутое гигиеническое заключение о качестве воды и пригодности ее для питья и приготовления пищи.

Анализ воды № 15 (из реки)

I. ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Прозрачность по шрифту Снеллена – 26 см

Цвет – желтоватый. Запах – слабоболотистый. Вкус – не определялся.

Осадок – значительный

II. ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

РН – 7,0

Окисляемость – 26 г/л O₂

Аммиак – положит.

Нитриты – резко положит.

Нитраты – резко положит.

Хлориды – 448 мг/л

Сульфаты – 612 мг/л

Железо – 22 мг/л

Жесткость общая – 23,5 ‰

Жесткость устранимая – 4,5 ‰

Жесткость постоянная – 19,0 ‰

III. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ:

Коли-титр – 10,0

Микробное число (счет колоний) – 2870

Решить задачу и дать развернутое гигиеническое заключение о качестве воды и пригодности ее для питья и приготовления пищи.

Анализ воды № 21 (из колодца с. Д-е)

I. ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Прозрачность по шрифту Снеллена – 26 см.

Цвет – бесцветная. Запах – без постороннего. Вкус – соленый.

II. ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Реакция на лакмус – щелочная

Аммиак – следы

Соли азотистой кислоты – резко положит.

Соли азотной кислоты – резко положит.

Окисляемость – 22 мг/л O₂

Хлориды – 480 мг/л

Сульфаты – резко положит.

Железо – 44,6 мг/л

Фтор – 2,8 мг/л

Жесткость общая – 48 ‰

Жесткость устранимая – 23 ‰

Жесткость постоянная – 25‰

III. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Коли-титр – 56,0

Микробное число (счет колоний) – 1976

Решить задачу и дать развернутое гигиеническое заключение о качестве воды и пригодности ее для питья и приготовления пищи.

Анализ воды № 27 (из колодца с. К-е)

I. ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Прозрачность по шрифту Снеллена – 32 см

Цвет – бесцветная. Запах – без постороннего. Вкус – не определялся.

II. ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

РН – 7,4

Аммиак – 4,6 мг/л

Соли азотистой кислоты – 8,3 мг/л

Соли азотной кислоты – 54 мг/л

Окисляемость – 18 мг/л O₂

Хлориды – 466 мг/л

Сульфаты – 458 мг/л

Железо – 1,5 мг/л

Фтор – 1,8 мг/л

Жесткость общая – 26,7 ‰

Жесткость устранимая – 12,3 ‰

Жесткость постоянная – 14,4 ‰

III. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Коли-титр – 0,1

Микробное число (счет колоний) – не подлежит подсчету

Выше колодца на расстоянии 100 м, в соседнем дворе, расположена поглощающая помойная яма.

Решить задачу и дать развернутое гигиеническое заключение о качестве воды и пригодности ее для питья и приготовления пищи.

Анализ воды № 19 (из артезианской скважины)

I. ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Прозрачность по шрифту Снеллена – свыше 30 см

Цвет – бесцветная. Запах – без постороннего. Вкус – не определялся.

II. ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

РН – 7,1

Окисляемость – 3,5 мг/л O₂

Аммиак – не обнаружен

Соли азотистой кислоты – не обнаружены

Соли азотной кислоты – 26 мг/л

Хлориды – 116 мг/л

Сульфаты – 143 мг/л

Железо – отрицат.

Фтор – 0,8 мг/л

Жесткость общая – 48,8 ‰

Жесткость устранимая – 23 ‰

Жесткость постоянная – 25,8 ‰

III. БАКТЕРИОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Коли-титр – 355,0

Микробное число (счет колоний) – 99

Решить задачу и дать развернутое гигиеническое заключение о качестве воды и пригодности ее для питья и приготовления пищи.

РАБОТА №13. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИЙ ПОДВИЖНЫХ ФОРМ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ В ПОЧВЕ МЕТОДОМ ААС

Цель занятий: Изучить и освоить методику определения концентраций подвижных форм различных тяжелых металлов в почве.

Необходимое оборудование: 1) Кислота азотная 0,5м раствор; 2) Вода бидистиллированная/деионизированная; 3) Цилиндр на 10 мл – 1 шт.; 4) Молярная колба на 100 мл – 1 шт.; 5) Воронка – 1 шт.; 6) Стакан термостойчивый – 1 шт.; 7) Фильтры «белая лента»; 8) Сито (d = 1 мм); 9) Ложка пластмассовая – 1 шт.; 10) Бумага А4 – 6 л.; 11) Ступка фарфоровая – 1 шт.; 12) Пест фарфоровый – 1 шт.; 13) Весы аналитические (точность измерений 0,01); 14) Шкаф сушильный; 15) Дозатор пипеточный; 16) Спектрометр атомно-абсорбционный; 17) Обрезец почвы.

Теоретическая часть. Современное антропогенное воздействие на окружающую природную среду затрагивает все ее компоненты: атмосферный воздух, поверхностные и подземные воды, почвенный покров и т. д. В частности, негативное воздействие на почву заключается в нарушении ее структуры и привнесении новых чужеродных веществ, приводящем к изменению химического состава и снижению уровня благоприятности для живых организмов.

Глобальная экологическая роль почвы связана с тем, что она, являясь результатом взаимодействия биотических и абиотических компонентов среды, сама значительно влияет на эти компоненты. Это обстоятельство особенно важно в условиях техногенеза и усиливающегося антропогенного влияния на экосистемы, наиболее распространенным и в то же время опасным проявлением которого является химическое загрязнение.

Реальная связь между системами химических элементов каждого компонента биосферы обеспечивается различными группами химических соединений, специфическими для каждой из природных сред. Химическое загрязнение еще больше усложняет это взаимодействие, что определяет все усиливающееся внимание к химическому составу почвы.

Для городских территорий, в связи с комплексным воздействием большого количества разного вида источников (таких как промышленные предприятия, транспорт, жилые зоны и др.) проблема загрязнения почвенного покрова, как основной депонирующей среды, особенно актуальна.

Городские почвы, в отличие от почв фоновых территорий, функционируют, помимо прочего, в измененных условиях водного и температурного режима, присущего урбанизированным экосистемам, а также при повышенном поступлении пыли, состав которой определяется потоками автотранспорта, топливного и промышленного производства, развитого в городе. Потоки загрязняющих веществ, попадающие в почвы городских территорий вместе с осаждающимися атмосферными выбросами, аккумулируются ей, некоторые из них могут удерживаться в почве десятки и сотни лет, в результате чего оказывают значительное влияние на процессы почвообразования и эволюцию городских почв.

Так, в почвах городов, где имеют место предприятия металлургической промышленности, отмечается повышенное содержание и подвижность тяжелых металлов, из которых к приоритетным загрязнителям относят Hg, Pb, Cd, Zn, As, поскольку накопление данных элементов в среде идет наиболее высокими темпами, что в свою очередь, вызывает повышение их содержания в растениях.

В настоящее время существует целый ряд количественных прецизионных методов определения концентрации веществ в проба различного происхождения: атомно-абсорбционный, рентгено-флуоресцентный, атомно-эмиссионный, плазменно-масс-спектрометрический, лазерно-искровой, эмиссионный спектральный и другие методы.

Благодаря высокой чувствительности и селективности одним из наиболее приоритетных методов определения содержания тяжелых металлов в различных средах является атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС), основанная на измерении поглощения резонансного излучения свободными атомами, находящимися в газовой фазе, за относительно короткое время.

При этом существует два принципиально отличных видов ионизирующего излучения: линейный и непрерывный. Соответственно, имеют место различные методы перевода определяемого вещества в атомный пар (виды атомизаторов). При линейном излучении к ним относятся пламенный, электротермический (непламенный) и метод холодного пара. Атомизация с использованием источника непрерывного излучения (дейтериевые и галогеновые лампы) обеспечивает более широкий спектральный диапазон, и следовательно, более высокую разрешающую способность по сравнению с применением источников линейного излучения.

Принцип работы атомно-абсорбционного спектрометра основан на анализе степени селективного поглощения резонансных спектральных линий атомным паром определяемого элемента (рисунок 6).

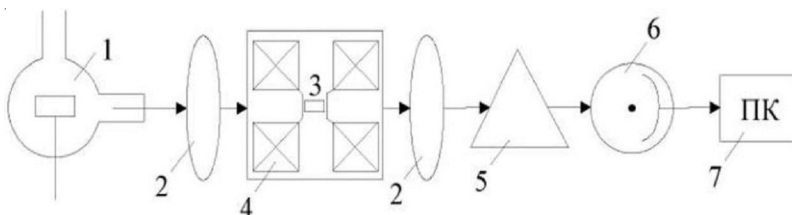


Рис. 6. Принципиальная схема атомно-абсорбционного спектрометра с электротермической атомизацией пробы:

1 – источник излучения; 2 – оптическая система; 3 – электротермический атомизатор; 4 – графитовая трубчатая печь; 5 – электромагнит монохроматора; 6 – фотоэлектрический преобразователь; 7 – персональный компьютер

При этом для каждого элемента существует собственная аналитическая резонансная линия, обеспечивающая максимальное поглощение света, источником которого служат лампы с полным катодом для каждого определяемого элемента (линейное излучение) (рисунок 7).

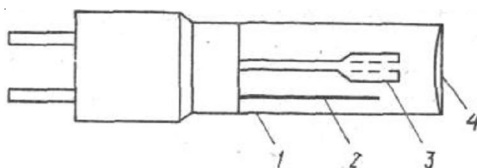


Рис. 7. Схема устройства лампы полого катода:

1 – баллон лампы; 2 – анод; 3 – катод; 4 – кварцевое окно.

Процесс атомизации (перевода анализируемой пробы в атомный пар) производится в аналитической ячейке электротермического атомизатора. Нагрев графитовой печи до температуры, необходимой для испарения пробы и атомизации элемента, осуществляется электрическим током (рисунок 8). В качестве защитного газа применяются некоторые инертные газы, в частности, аргон (высокой чистоты).

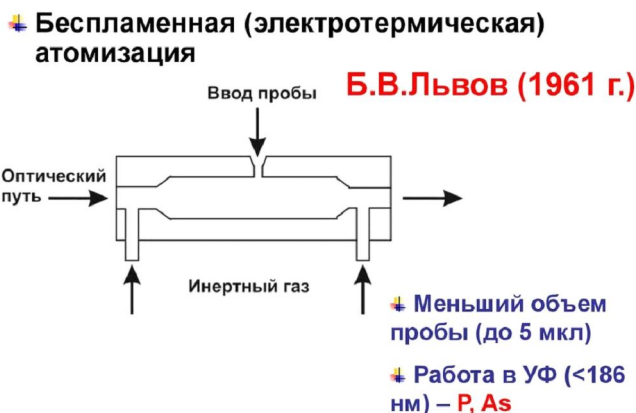


Рис. 8. Принцип работы беспламенной (электротермической атомизации)

В связи с наличием в аналитической ячейке, помимо атомов определяемого элемента, газообразных компонентов, способных поглощать падающий свет, имеет место явление неатомного, или фонового, поглощения, которое, в свою очередь, является источником систематической погрешности измерений. Для автоматической коррекции данного типа поглощения в спектрометре используется обратный эффект Зеемана, обеспечиваемый размещением графитовой печи в продольном переменном магнитном поле (рисунок 9).

Зеемановские спектрометры

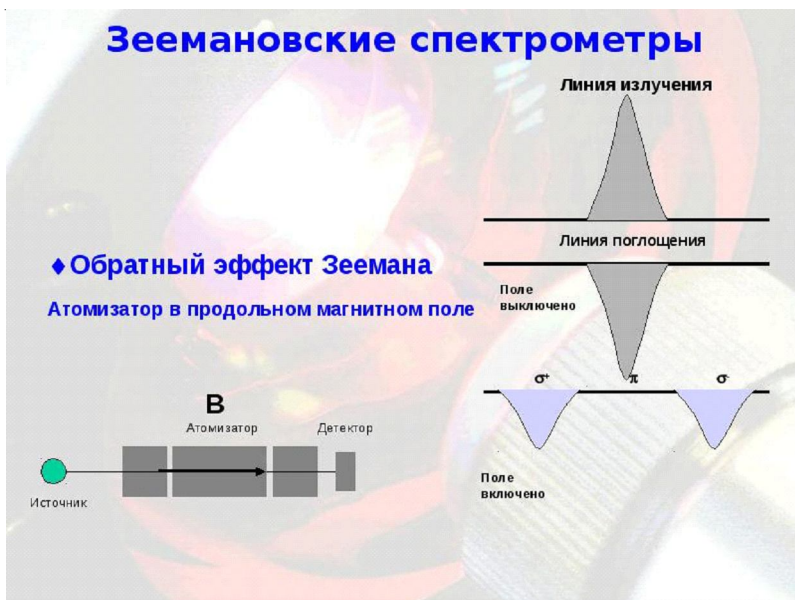


Рис. 9. Обратный эффект Зеемана, обеспечиваемый размещением графитовой печи в продольном переменном магнитном поле

Все вышеперечисленное обуславливает как высокую степень точности результатов, так и широту спектра определяемых элементов. Оборудование, позволяющее реализовывать подобные исследования, представлено различными моделями спектрометров: contrAA 800 series, SavantAA, SensAA, AA6800, novAA 400 P, ZEEnit 650 P и др.

Процесс определения концентраций подвижных форм тяжелых металлов в почве методом атомно-абсорбционной спектроскопии включает в себя три основных этапа:

- 1) Подготовка пробы почвы для анализа;
- 2) Проведение измерений;
- 3) Обработка результатов и анализ полученной информации.

Первый этап включает в себя первичное высушивание пробы почвы до воздушно-сухого состояния. Пробы распределяют по листу плотной оберточной бумаги слоем не более 2 см толщиной, измельчая крупные комки почвы. Разложенные пробы сверху прикрывают бумагой и оставляют в таком виде на несколько дней, периодически перемешивая. Далее пробы размещают на листе чистой оберточной бумаги и удаляют из него корни, включения и новообра-

зования. Дернину тщательно отряхивают от комочков почвы. Крупные комки почвы разламывают руками или дробят в фарфоровой ступке пестиком с резиновым наконечником до небольших комков диаметром 5–7 мм.

Затем из общей пробы необходимо отобрать среднюю пробу. Лучше всего это делать квартованием. Для этого измельченную дроблением и перемешанную пробу раскладывают на бумаге в виде квадрата или прямоугольника и делят по диагоналям (линейкой или шпателем) на четыре части. Две противоположные части высыпают в пакет для хранения на случай повторных или дополнительных определений обязательно с этикеткой пробы (рисунок 10).

Из оставшегося объема наиболее крупные комки почвы раздавливают в фарфоровой ступке до агрегатов не более 3–5 мм в диаметре и смешивают на листе бумаги с остальной почвой. После тщательного перемешивания почву распределяют по листу ровным слоем толщиной 0,5 см в виде квадрата или прямоугольника, который затем делят шпателем или линейкой на небольшие квадраты или прямоугольники размером 3х3 см или 3х4 см. Из каждого квадрата или через один берут ложкой или шпателем небольшое количество почвы, захватывая ее на всю глубину слоя.

Среднюю пробу растирают в фарфоровой ступке пестиком с каучуковым наконечником, который предотвращает растривание обломков пород и минералов и загрязнение почвы осколками фарфора. Почву растирают по возможности раздавливанием. Измельченный образец просеивают через почвенное сито с отверстиями диаметром 1 мм. После просеивания, сито нужно держать закрытым в течение 1–2 мин, чтобы дать осесть пыли и не потерять самую активную часть почвы – илистую фракцию.

Затем просеянную через сито почву помещают на лист бумаги, вновь перемешивают, распределяют ровным слоем толщиной 0,5 см, делят на квадраты и набирают квартованием необходимое для анализа количество почвы. Приготовленную навеску в случае необходимости хранят в бумажных или полиэтиленовых пакетах.

Извлечение подвижных форм тяжелых металлов из почвы, как правило, проводится с помощью кислотной вытяжки. Методы кислотного разложения твердых образцов в открытых сосудах являются классическими и широко используются при определении тяжелых металлов.

Традиционными методами являются сухая и мокрая минерализация. Сухая минерализация представляет собой нагревание пробы на воздухе до температуры 450–550 °С в муфельной печи. Единственным реагентом при сухом озолении является кислород воздуха, при помощи которого происходит окисление органической матрицы.

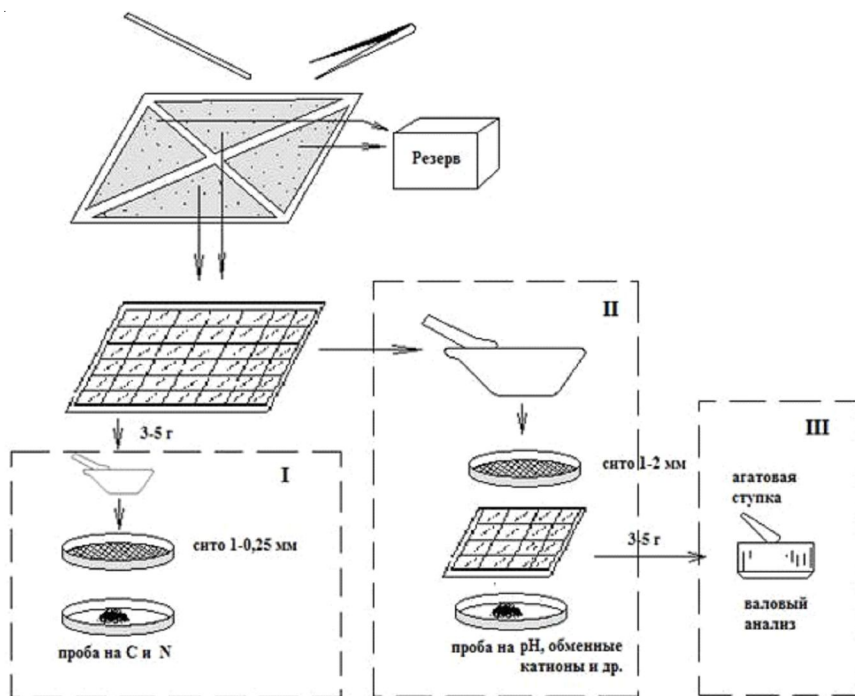


Рис. 10. Метод квартования пробы

Влажный материал перед озолением высушивают в сушильном шкафу или на плитке, летучие растворители удаляют выпариванием на водяной бане. Чашку с пробой помещают в муфельную печь и постепенно нагревают до нужной температуры. Если остаются черные частицы, то озоление повторяют или вводят окислительные добавки. Зола, получаемую после прокалывания, переводят в раствор с помощью кислот. При сухом озолении возможно улетучивание некоторых элементов. Иногда в пробу добавляют вещества, способствующие более эффективному и быстрому окислению и предотвращающие улетучивание некоторых компонентов пробы.

Способ мокрой минерализации основан на полном окислении органических веществ сильными окислителями при температуре 150–200 °С. «Мокрые» способы не требуют высоких температур, поэтому не сопряжены с большими потерями летучих веществ, что является их преимуществом перед «сухой» минерализацией. Недостатки метода связаны с большими временными затратами и необходимостью введе-

ния большого количества реагента-окислителя, что может послужить источником загрязнений пробы.

Наиболее часто применяются смеси: $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{SO}_4\text{-HClO}_4$; $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$; $\text{HClO}_4\text{-H}_2\text{SO}_4$; $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$. Можно также проводить окисление пероксидом водорода или перманганатом калия. Для разрушения органических веществ, остающихся после обработки смесью серной и азотной кислот, а так же одной из кислот-окислителей (серной, азотной, хлорной и т. п.), в пробу добавляют пероксид водорода или перманганат калия. Иногда применяют смесь серной и хромовой кислот, перманганата калия в кислой и щелочной средах и др. При выборе реагентов необходимо принимать во внимание их чистоту, возможное образование мешающих веществ и пригодность способа минерализации для конкретного метода определения металлов.

Так, в соответствии с аттестованной для ААС методикой пробоподготовки М–МВИ–80–2008, разложение проб для определение подвижных форм элементов проводится с помощью раствора азотной кислоты с молярной концентрацией 0,5 моль/дм³.

Навеску анализируемой пробы массой 2,00 г (выполненную на аналитических весах) помещают в стеклянный термостойкий стакан, приливают 10 см³ азотной кислоты, перемешивают и выдерживают в сушильном шкафу при температуре 90 °С и перемешивании через каждые 15–20 минут в течение 3-х часов. Затем пробу фильтруют через бумажный фильтр в молярную колбу объемом 100 см³. Полученный объем вытяжки доводят до метки бидистиллированной водой (рисунок 11).

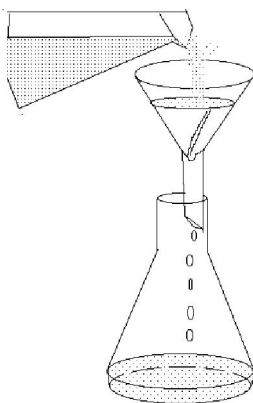


Рисунок 11 – Фильтрация почвенной вытяжки

Аналогично берут вторую навеску той же пробы и готовят кислотную вытяжку для нее. Параллельно готовят холостой раствор по той же методике с использованием тех же реактивов и материалов.

Собственно проведение измерений содержания подвижных форм тяжелых металлов проводится на атомно-абсорбционном спектрометре. Выполнение измерений на спектрометре также осуществляется в несколько этапов. Первый включает в себя загрузку уже имеющейся или создание новой калибровки для анализируемого элемента.

В случае необходимости создания новой калибровки, этот процесс происходит следующим образом:

1) после включения спектрометра и запуска в главном окне программы «КВАНТ.Z» открывается методика на определяемый элемент, в пункте «Калибровки» выбирается опция «Создать»;

2) в появившемся окне «Создание калибровки» устанавливается тип аналитического сигнала («Пик» либо «Интеграл»), в пункте «Размерность» – единица концентрационной размерности, в пункте «Объем» – значение объема аликвоты, далее заполняются окна «Концентрация», «Название», «Описание»;

3) поочередно измеряются фоновые растворы (стандарты) с заданной концентрацией калибруемого элемента (с отклонением до 2 %), причем количество параллельных измерений (не менее двух) каждого раствора заранее не устанавливается, а определяется статистическими характеристиками серии;

4) после окончания измерений последнего стандарта в окне «Создание калибровки» будут отражены все калибровочные точки и аппроксимирующая кривая. На данном этапе осуществляется выбор типа кривой (линейная, параболическая либо дробно-рациональная), затем вновь созданная калибровка сохраняется.

На втором этапе осуществляется настройка параметров методики и, собственно, измерение анализируемых проб:

1) оператором открывается окно «Измерение», в пункте меню «Вид» выбираются метрологические и иные характеристики, которые будут отражены при проведении измерений;

2) в строку «Новый образец» вводится название анализируемого образца и после нажатия кнопки «Добавить» оно появится в таблице измерений. При наличии нескольких проб для одновременного анализа программа позволяет добавить сразу все названия образцов и проводить измерение в указанной последовательности либо добавлять новые строки непосредственно перед загрузкой пробы в печь;

3) затем оператором с помощью настроенной микропипетки (дозатора) осуществляется дозирование 5, 10 или 20 мкл (в зависимости от анализируемого металла) аликвоты анализируемой пробы в графитовую печь. В случае, если значение массовой концентрации элемента в приготовленном растворе выходит за рамки градуировочных характеристик, то раствор необходимо разбавить не более чем в 1000 раз бидистиллированной водой так, чтобы массовая концентрация могла быть рассчитана по имеющейся градуировочной характеристике;

4) при нажатии кнопки «Измерение», расположенной в верхней строке окна «Измерения» запускается программа нагрева графитовой печи и в правой части экрана появляется окно «Аналитический сигнал», в котором индицируется текущая стадия нагрева и ее протекание. После окончания программы нагрева в вышеуказанном окне отображается импульс атомной абсорбционности и его амплитудное значение и интеграл. При этом в таблице окна «Измерение» отражаются амплитудное значение сигнала и значение концентрации, рассчитанное по калибровочной зависимости.

Начиная со второго измерения, в таблицу результатов добавляются значения среднего квадратического и относительного среднего квадратического отклонений.

5) завершающим этапом работы на спектрометре является формирование оперативного отчета, для чего в меню окна «Измерения» в пункте «Отчет» выбирается форма отчета «Текст» или «Таблица» и полученные результаты сохраняются отдельным файлом.

Кроме того, результаты измерений могут быть сохранены в сводной таблице, где производится их обработка с учетом параметров предварительной подготовки анализируемой пробы. Для этого в окне «Измерения» необходимо нажать кнопку «Сохранить».

Программное обеспечение спектрометра, как правило, автоматически конвертирует сигнал и выражает концентрацию определяемого вещества в растворе в микрограммах на литр (мкг/л). Однако результаты определения микроэлементов в почве принято выражать в миллиграммах на килограмм почвы (мг/кг). Такой прием равнозначен зарубежному выражению р.р.м. ($1 \text{ ppm} = 1 \text{ мг/кг}$), что означает parts per million, то есть частей на миллион, что в процентах соответствует $10^{-4} \%$. В этих же значениях представлены ПДК загрязняющих веществ в почве. Массовую долю определяемого элемента в пробе для каждого определения X_i^{AAC} , млн⁻¹, вычисляют по следующей формуле:

$$X_i^{\text{AAC}} = \frac{(C_{mi} - C_x) \cdot V \cdot k}{m},$$

где C_{mi} – массовая концентрация элемента в анализируемом растворе, мг/дм³; C_x – массовая концентрация элемента в холостом растворе, мг/дм³; V – объем анализируемого раствора ($V=100$ см³); k – коэффициент разбавления (от 1 до 1000); m – масса навески пробы, г ($m=2$ г).

Далее вычисляют среднее значение массовой доли элемента для двух определений X^{AAC} :

$$X^{\text{AAC}} = \frac{X_1^{\text{AAC}} + X_2^{\text{AAC}}}{2},$$

и проверяют приемлемость результатов двух определений по условию:

$$\frac{|X_1^{\text{AAC}} - X_2^{\text{AAC}}|}{X^{\text{AAC}}} \leq d,$$

где d – норматив (предел повторяемости результатов параллельных определений), $d=30$ %.

При выполнении данного условия значение X^{AAC} округляют и принимают в качестве результата измерений. При невыполнении условия измерения повторяют, устранив причину отклонений.

Результаты измерений представляют в виде:

$$X^{\text{AAC}} \pm \Delta, (P=0,95),$$

где Δ – границы суммарной абсолютной погрешности измерения массовой доли элемента, мг л⁻¹, при доверительной вероятности $P=0,95$.

В свою очередь показатель D рассчитывается по формуле:

$$\Delta = \frac{X^{\text{AAC}}}{100} \cdot \delta,$$

где δ – границы суммарной относительной погрешности, %.

В итоге получаем концентрацию металлов в почве, выраженную в, что равнозначно мг/кг для каждой пробы. В таком виде с результатами очень удобно работать: полученные данные позволяют судить о содержании анализируемых элементов в исследуемой среде на конкретной территории, их можно сопоставлять со значениями ПДК, сопоставлять меж-

ду собой и выделять области максимального загрязнения, также возможно составление карты градиентов концентрации определенного металла в почве, если имеется необходимость.

Ход работы:

1. Высушить образец почвы до воздушно-сухого состояния;
2. Измельчить и просеять почву, отобрать среднюю пробу методом квартования;
3. Отмерить навеску пробы, добавить в необходимой пропорции азотную кислоту и перемешать;
4. Выдержать пробу в сушильном шкафу при температуре +90 °С и перемешивании через каждые 15–20 минут в течение 3-х часов;
5. Профильтровать раствор с помощью бумажного фильтра в молярную колбу;
6. Довести полученную вытяжку до метки бидистиллированной или деионизированной водой;
7. Аккуратно перемешать раствор и перелить обратно в стакан (предварительно его помыв дистиллированной водой и просушив);
8. Включить спектрометр и выбрать нужную калибровку (в случае отсутствия таковой – создать новую);
9. Провести измерение концентрации исследуемых элементов в полученном растворе;
10. Перевести результаты измерений из мкг/л в мг/кг;
11. Проанализировать полученные данные.

Контрольные вопросы

1. В чем состоит научная и практическая значимость исследования загрязнения почвенного покрова тяжелыми металлами?
2. Назовите основные методы определения содержания тяжелых металлов в природных средах.
3. Охарактеризуйте суть эффекта Зеемана.
4. Что включает в себя подготовка пробы почвы для анализа на содержание тяжелых металлов (алгоритм)?
5. Назовите методы минерализации почвы.
6. Что представляет собой метод атомно-абсорбционной спектроскопии?
7. Что включает в себя проведение измерений проб методом ААС (алгоритм)?
8. Зачем необходимо производить перерасчет полученных результатов измерений из мкг/л в мг/кг?

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Акинин, Н.И. Промышленная экология: принципы, подходы, технические решения: учебное пособие / Н.И. Акинин.–Долгопрудный, 2011. – 310 с.
2. Ахмадуллина, Л.Г. Биология с основами экологии: учебное пособие / Л.Г. Ахмадуллина. – М., 2013.–127 с.
3. Грачев, С.Е. Методы статистического анализа в экологии: учебное пособие / С.Е. Грачев, В.В. Гамага. – М., 2015.–77 с.
4. Грачева, И.М. Технология ферментных препаратов/И.М. Грачева.-М.: Агропромиздат, 1987.–335с.
5. Голубкина, Н.А. Лабораторный практикум по экологии: учебное пособие / Н.А. Голубкина.–М., 2009. – 59 с.
6. Другов, Ю. С. Анализ загрязненной почвы и опасных отходов: практическое руководство / Ю.С. Другов, А.А. Родин. – М., 2014.–469 с.
7. Зайцев, В.А. Промышленная экология: учебное пособие / В.А. Зайцев. – М., 2013.–382 с.
8. Капранов, С.В. Почва, отходы и здоровье человека/ С.В. Капранов, В.М. Шулика.–Луганск, 2010.–487 с.
9. Кириллов, С.Н. Экологическое проектирование и экспертиза: учебно-методическое пособие / С.Н. Кириллов, Е.М. Шлевкова.–Волгоград, 2011.–175 с.
10. Кирпо, Н.И. Экология почв в мелиоративном земледелии Нижнего Поволжья (теория и практика): монография / Н.И. Кирпо, В.Ф. Лобойко.–Волгоград, 2010.–119 с.
11. Лабинская, А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований/ А.С. Лабинская. – М.: Медицина, 1986. – 391 с.
12. Лакшин, А.М. Общая гигиена с основами экологии человека / А.М. Лакшин, В.А. Катаева. – М.: Медицина, 2004.–115 с.
13. Ларионов, Н.М. Промышленная экология: учебник для бакалавров / Н.М. Ларионов, А.С. Рябышенков. – М., 2013.–495 с.
14. Мамонтов, В.Г. Практическое руководство по химии почв: учебное пособие / В.Г. Мамонтов, А.А. Гладков, М.М. Кузелев.-М.: Изд-во РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева, 2012.–47 с.
15. Методические рекомендации по проведению полевых и лабораторных исследований почв и растений при контроле загрязнения окружающей среды металлами / Ин-т эксперим. метеорологии, МГУ им. М. В. Ломоносова; Под ред. Н.Г. Зырина, С.Г. Малахова. – М.: Гидрометеиздат, 1981. – 109 с.
16. Методическое руководство к лабораторно-практическим занятиям по мик-робиологии. Ч.2.–М., 1975.–84 с.
17. Микробиология / Под ред. Покровского. – М: Медицина, 2000. – 357 с.
18. Микробиология и биохимия разложения растительных материалов.– М: Наука, 1966.–332 с.

19. Мудрецова-Висс, К.А. Микробиология, санитария и гигиена: учебник / К.А. Мудрецова-Висс, А.А.Кудряшова, В.П. Дедюхина. – М.: ИД «Деловая литература», 2001. – 388 с.
20. Нетрусов, А.И. Микробиология: учебник / А.И. Нетрусов, И.Б. Котова. – М.: Академия, 2006. – 349 с.
21. Прикладная экобиотехнология: учебное пособие: в 2 т. / А.Е. Кузнецов и др.–Т. 1: 2012.–629 с.–Т. 2: 2012.–485 с.
22. Пробоподготовка в экологическом анализе: практическое руководство / Ю.С. Другов, А.А. Родин. – 3-е изд. доп. и перераб. – М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. – 855 с.: ил. – (Методы в химии).
23. Промышленная экология: учебник для вузов / [под ред. В. В. Гутенева].–М., 2009.–838 с.
24. Промышленная экология: учебник / [редкол.: Ажгиревич А.И., Азаров В.Н., Слипечук М.В.]. – М., 2013.–457 с.
25. Рекультивация техногенно-нарушенных земель и создание озеленительных территорий для оздоровления окружающей среды: монография / А.С. Овчинников [и др.], под общ. ред. Г.К. Лобачевой.–Ч. 1: 2015.–394 с.
26. Рекультивация техногенно-нарушенных земель и инженерно-мелиоративные подходы к формированию озеленительных территорий для оздоровления окружающей среды: монография; под общ. ред. Г. К. Лобачевой.–Волгоград, 2012. – 388 с.
27. Рубан Э.Д. Крымская И.Г. Гигиена и основы экологии человека: учебное пособие / Э.Д. Рубан, И.Г. Крымская.–2007.–351 с.
28. Руководство по медицинской микробиологии. Общая и санитарная микробиология/ Под ред. Лабинской А.С., Е.Г.Волиной.–М.: БИНОМ, 2008. – 1080 с.
29. Сердюцкая, Л.Ф. Техногенная экология: математико-картографическое моделирование / Л.Ф. Сердюцкая, А.В. Яцишин.–М., 2009. – 226 с.
30. Способы пробоподготовки почвы, донных отложений и твердых отходов для атомно-абсорбционного определения тяжелых металлов / В.И. Сафарова, Г.Ф. Шайдудина, Т.Н. Михеева [и др.]. // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2010. – № 2. – С. 10–14.
31. Степановских, А.С. Биологическая экология: теория и практика: учебник / А.С. Степановских.–М., 2009.–791 с.
32. Ступин, Д.Ю. Загрязнение почв и новейшие технологии их восстановления: учебное / Д.Ю. Ступин.–СПб., 2009.–428 с.
33. Современная микробиология. Прокариоты / Под ред. Й. Ленгелера, Г. Дрекса, Г. Шлегеля. – М.: Мир, 2005. – Т. 1. – 656 с.
34. Теппер, Е.З. Практикум по микробиологии / Е.З. Теппер, В.К. Шильникова, Г.И. Переверзева.–М.: Колос, 1993.–175 с.
35. Уонд, Д. Ферментация и технология ферментов / Д. Уонд, Ч. Кооней, А. Демайн и др.–М.: Легкая промышленность, 1983.–335 с.
36. Фомичев, А.Н. Проблемы концепции устойчивого экологического развития: системно-методологический анализ / А.Н. Фомичев.–М., 2009.–213 с.

37. Экология города: учебник / Ажгиревич А.И., Азаров В.Н., Алешин А.В., Грачев В. А., под общ. ред. В. В. Гутенева. – М., 2014.–434 с.
38. http://www.rlib.yar.ru/_metod_mater/v_7/02/internet_ecol.htm.
39. <http://mbukcbs.ru/ekologicheskie-resursy/item/internet-resursy-po-ekologii>.
40. Экологическая электронная библиотека (<http://lib.priroda.ru>).
41. Экологический мониторинг (<http://ecomonitoring.report.ru/>).
42. http://www.scholar.ru/catalog.php?topic_id=86.
43. <http://lib.ulsu.ru/downloads/internet.pdf>.
44. <http://center-yf.ru/data/stat/ekologicheskij-monitoring.php>.
45. <https://poisk-ru.ru/s81588t1.html>.
46. <http://meganorm.ru/Index2/1/4293824/4293824289.htm>.
47. <http://www.ak-hoffmann.chemie.uni-mainz.de/pdf/script/AnalytC-Teil-4-folien.pdf>.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ	3
ТЕХНИКА БЕЗОПАСНОСТИ В ЛАБОРАТОРИИ	3
РАЗДЕЛ № 1. МОНИТОРИНГ АТМОСФЕРНОГО ВОЗДУХА	4
<i>Работа № 1.</i> Принципы стерилизации объектов, лабораторной посуды и инструментов	4
<i>Работа № 2.</i> Определение концентрации CO ₂ в воздухе	10
<i>Работа № 3.</i> Учет численности бактерий в воздухе	16
<i>Работа № 4.</i> Оценка уровня загрязнения атмосферного воздуха методом биоиндикации	20
РАЗДЕЛ № 2. МОНИТОРИНГ ВОДНЫХ ОБЪЕКТОВ	27
<i>Работа № 5.</i> Определение органолептических показателей качества воды	27
<i>Работа № 6.</i> Методы мониторинга водных объектов	33
<i>Работа № 7.</i> Микроскопические исследования воды	47
<i>Работа № 8.</i> Определение pH открытых водных объектов	52
РАЗДЕЛ № 3. МОНИТОРИНГ ПОЧВЕННОГО ПОКРОВА	56
<i>Работа № 9.</i> Колориметрическое определение pH водных вытяжек почвенных горизонтов	56
<i>Работа № 10.</i> Качественное определение форм перегноя в почве	59
<i>Работа № 11.</i> Превращение безазотистых органических веществ под влиянием микроорганизмов	62
<i>Работа № 12.</i> Выделение почвенных микроорганизмов	64
<i>Работа № 13.</i> Определение концентраций подвижных форм тяжелых металлов в почве методом ААС	70
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА	82

Учебное издание

Иванцова Е. А., Герман Н. В., Тихонова А. А.

МЕТОДЫ ОЦЕНКИ ЗАГРЯЗНЕНИЙ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

*Учебно-методическое пособие
для бакалавров и магистрантов направлений подготовки
«Экология и природопользование», «Техносферная безопасность»*

Главный редактор *А.В. Шестакова*
Верстка и техническое редактирование *М.Ю. Меркуловой*
Оформление обложки *Н.Н. Захаровой*

Печатается в авторской редакции.

Подписано в печать 15.11 2018 г. Формат 60×84/16.
Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Усл. печ. л. 4,9. Уч.-изд. л. 5,3.
Тираж 200 экз. (1-й завод 1–50 экз.). Заказ . «С» 82.

Волгоградский государственный университет.
400062 Волгоград, просп. Университетский, 100.
www.volsu.ru

Отпечатано в издательстве
Волгоградского государственного университета.
400062 Волгоград, ул. Богданова, 32.
E-mail: izvolgu@volsu.ru

