



Н. В. Марина  
А. В. Лантинова

# **ЭКОЛОГО-АНАЛИТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

Екатеринбург  
2023

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Уральский государственный лесотехнический университет»  
(УГЛТУ)

Кафедра экологии и природопользования (ЭиП)

Н. В. Марина  
А. В. Лантинова

# **ЭКОЛОГО-АНАЛИТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ ОБЪЕКТОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

*Лабораторные работы*

Методические указания для обучающихся по направлению подготовки  
05.04.06 «Экология и природопользование»  
Дисциплина «Планирование, организация и проведение  
экологических исследований»

Екатеринбург  
2023

Печатается по рекомендации методической комиссии института леса и природопользования УГЛТУ.

Протокол № 1 от 03 октября 2022 г.

Рецензент – канд. хим. наук, доцент, зав. кафедрой физико-химической технологии защиты биосферы Ю. А. Горбатенко

Редактор В. Д. Билык

Оператор компьютерной верстки О. А. Казанцева

---

Подписано в печать 19.12.2023		Поз. 13
Плоская печать	Формат 60×84 1/16	Тираж 10 экз.
Заказ №	Печ. л. 1,39	Цена руб. коп.

---

Редакционно-издательский отдел УГЛТУ

Сектор оперативной полиграфии РИО УГЛТУ

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Лабораторная работа 1.</b> Определение фитотоксичности почв и воды методом биотестирования .....	4
<b>Лабораторная работа 2.</b> Определение содержания подвижного фосфора в почвах по методу Кирсанова.....	9
<b>Лабораторная работа 3.</b> Определение химического состава минерализованных вод .....	12
<b>Лабораторная работа 4.</b> Определение аскорбиновой кислоты в растительных объектах .....	16
<b>Лабораторная работа 5.</b> Определение плодородия почв с помощью индикаторных бумаг .....	19
<b>Приложение</b> .....	21

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 1.

### Определение фитотоксичности почв и воды методом биотестирования

В настоящее время основным направлением в оценке состояния компонентов окружающей среды является *эколого-аналитический контроль*. Он основан на определении содержания индивидуальных загрязняющих веществ в почве, атмосферном воздухе и природных водах и сравнении полученных результатов с нормативами ПДК.

Основным недостатком данного подхода является тот факт, что существующее санитарно-гигиеническое нормирование качества окружающей среды, как правило, носит антропоцентрический характер и не позволяет дать комплексную оценку экологической безопасности природных и антропогенно нарушенных экосистем. Поэтому изучение последствий техногенной нагрузки на окружающую среду стало невозможным без применения метода биологической индикации, который дает прямую информацию о реакции организмов на стрессовые факторы и, как правило, его результат является интегральным показателем.

*Биоиндикация* – это один из способов оценки качества окружающей среды путем определения биологически значимых нагрузок на основе реакций на них живых организмов и их сообществ. В полной мере это относится ко всем видам антропогенных загрязнений.

Различают два основных вида биоиндикации: пассивную и активную.

*Пассивная биоиндикация* – выявление видимых или незаметных повреждений и отклонений от нормы, которые являются ответной реакцией свободноживущих организмов на негативные факторы окружающей среды.

*Активная биоиндикация, или биотестирование*, – установление токсичности среды при помощи тест-организмов, которые специально отбираются и выращиваются в стандартных контролируемых условиях и способны сигнализировать о стрессовом воздействии комплекса загрязняющих веществ, которые вызывают изменение важных показателей их жизнедеятельности.

Использование методов биоиндикации и биотестирования возможно на всех организационных уровнях биологических систем – от молекулярного до биосферного.

В процедуре биотестирования природных и сточных вод, водных вытяжек из почв, техногенных отвалов, осадков сточных вод и отходов наиболее часто в качестве тест-организмов используют простейших, ракообразных и микроводоросли. При этом нет универсального тест-организма, который бы был одинаково чувствителен к любым загрязняющим веществам и их различным комбинациям.

Для тестирования водных объектов наиболее часто используют ветвистых рачков дафний (*Daphnia magna*, *Daphnia pulex*), несколько видов микроскопических зеленых водорослей из класса протококковых (сценедесмус *Scenedesmus quadricauda*, хлорелла *Chlorella vulgaris Beijer*) и несколько видов рыб: как аквариумных (гуппи, данио-рерио), так и мелких аборигенных (голец, гольян).

## 1. Принцип методики биотестирования с использованием *Chlorella vulgaris Beijer*

В основу данной методики положено сравнение суточного прироста клеток зеленой одноклеточной водоросли *Chlorella vulgaris Beijer* в контрольном и опытном вариантах. Изменение численности клеток определяется посредством измерения оптической плотности суспензии водоросли на фотоэлектроколориметре при длине волны 670 нм.

По данной методике расчет показателя токсичности КТ проводится по формуле

$$КТ = (A_k - A_t) / A_k, \quad (1)$$

где  $A_k$  и  $A_t$  – величины оптической плотности контрольного и тестируемого образца соответственно, после 24 часов биотестирования.

Критерием токсичности тестируемого образца является снижение на 20 % и более (подавление роста) или увеличение на 30 % и более (стимуляция роста) величины оптической плотности культуры водоросли, выращиваемой в течении 23 часов на тестируемой воде по сравнению с ее ростом на контрольной среде, приготовленной на дистиллированной воде.

Степень токсичности образца (воды или водной вытяжки из почвы) устанавливается на основе токсикологических характеристик через величину биологически безопасного разбавления, кратного 3, согласно табл. 1.

Для этого из результатов биотестирования разведений пробы воды, кратных трем, выбирают то разбавление, для которого рассчитанный коэффициент токсичности превысил значение 0,2 (подавление роста) или 0,3 (стимуляция роста).

При тестировании водных вытяжек из почвы может присутствовать явление агрегации клеток хлореллы, которая фиксируется визуально по появлению в суспензии комочков зеленого цвета, реже бесцветных. При этом с увеличением количества действующих токсикантов агрегированные частицы укрупняются, нарушается равномерность их распределения по объему, и может произойти их оседание на дно и обесцвечивание. Учет появления агрегации проводят как оказание токсического действия на хлореллу.

Таблица 1

Токсикологические характеристики качества испытуемой воды (водной вытяжки)

Величина разбавления тестируемой воды, при которой превышен коэффициент токсичности	Степень токсичности
1 (без разбавления)	слаботоксичная
3	среднетоксичная
9	токсичная
27	сильнотоксичная
81	гипертоксичная

## 2. Оборудование, материалы, реактивы

Для проведения исследований по данной методике необходимы следующие средства измерений, материалы и реактивы:

- многоцветный культиватор водорослей КВМ-05 (или Фитотестер-03);
- культиватор КВ-05;
- фотоэлектроколориметр КФК-2М или аналогичный
- весы лабораторные общего назначения;
- цилиндр мерный вместимостью 100 см<sup>3</sup>;
- стаканы вместимостью 200 и 50 см<sup>3</sup>;
- пипетки вместимостью 1, 5 и 10 см<sup>3</sup>;
- вода дистиллированная;
- среда Тамия;
- культура зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* Beijer.

## 3. Подготовка к биотестированию

Методы отбора проб воды и почвы, их транспортировка, хранение, подготовка к биотестированию должны обеспечивать неизменность состава проб почвы и воды в интервале между временем их отбора и анализа.

3.1. Процедуру отбора проб воды, транспортировки и хранения проводят согласно ГОСТ Р 51592–2000 «Вода. Общие требования к отбору проб» и ГОСТ 17.1.5.05–85 «Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков».

Биотестирование проб воды проводят не позднее 6 часов после их отбора. Если нет возможности проведения анализа в указанный срок, то пробы воды охлаждают (+2...+4 °С) и хранят не более 24 часов после отбора.

Пробы снега и льда предварительно растапливают при комнатной температуре.

При необходимости тестируемые пробы фильтруют через бумажный фильтр («синяя» или «зеленая» лента).

3.2. Пробы почвы высушивают на воздухе до воздушно-сухого состояния, выбирают посторонние включения, растирают в ступке пестиком и просеивают через сито с диаметром отверстий 1 мм.

Водные вытяжки из почвы готовят согласно ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.9-02 в соотношении 1 часть почвы и 4 части дистиллированной воды. Почвенную суспензию встряхивают в течение двух часов, отстаивают и фильтруют через складчатый фильтр («синяя или зеленая лента»).

3.3. Приготовление разбавленных растворов исследуемых вод и водных почвенных вытяжек.

Из подготовленной к биотестированию воды (почвенной вытяжки) путем последовательных трехкратных разбавлений получают серию испытуемых растворов, разбавленных относительно исходной пробы в 3, 9, 27 и 81 раз (ряд разбавлений, кратных 3). Один раствор в серии остается неразбавленным. Разбавление проводят дистиллированной водой. В процессе приготовления разбавлений пробы тщательно перемешивают.

Таким образом получают 6 вариантов тестируемой пробы воды, включая контрольную пробу:

- 1) исходная (неразбавленная проба) воды, 100 %;
- 2) проба, разбавленная в 3 раза, 33 %;
- 3) проба, разбавленная в 9 раз, 11 %;
- 4) проба, разбавленная в 27 раз, 3,7 %;
- 5) проба, разбавленная в 81 раз, 1,2 %;
- 6) контрольная проба (дистиллированная вода), 0 %.

3.4. Приготовление суспензии хлореллы.

Для биотестирования используют альгологически чистую культуру водоросли *Chlorella vulgaris Beijer*, находящуюся в экспоненциальной стадии роста (через одни сутки после пересева в культиватор КВ-5). Для поддержания экспоненциальной стадии роста водоросли пересев осуществляется ежедневно.

Перед биотестированием культура водоросли, выращенная на 100 % среде Тамия в культиваторе КВ-05, профильтровывается через четыре слоя марли и разбавляется до оптической плотности, равной 0,8–0,9, свежей 100 % средой Тамия. Измерение оптической плотности проводят на фотоэлектроколориметре КФК-2МП в кювете с толщиной 1 см при длине волны 670 нм.

Алгоритм работы на фотоэлектроколориметре КФК-2МП приведен в прил.

## 4. Проведение биотестирования

4.1. Тестируемые и контрольную пробы в объеме 6 см<sup>3</sup> помещают во флаконы и добавляют к ним по 1 см<sup>3</sup> подготовленной суспензии хлореллы. Флаконы закрывают полиэтиленовыми пробками с отверстиями, которые

обеспечивают оптимальный газообмен со средой и предотвращают излишнее испарение культуральной жидкости. Определение ведут в трех параллельных измерениях.

4.2. Биотестирование проводят в фитотестере в течение 23 часов при температуре 34–36 °С, интенсивности света 80 Вт/м<sup>2</sup> и скорости вращения кассеты с тестируемыми образцами 30 об./мин.

4.3. После 23 часов биотестирования проводят измерение оптической плотности суспензии водоросли во всех флаконах на фотоэлектроколориметре при длине волны 670 нм и толщине кюветы 1 см.

Эксперимент считают успешным, если величины оптической плотности суспензии водоросли в контрольном варианте были не ниже 0,120.

4.4. По полученным данным проводят оценку степени токсичности воды (водной вытяжки) согласно п. 1.

### *Используемая литература*

1. Аринушкина, Е. В. Руководство по химическому анализу почв. – Москва : Изд-во Московского университета, 1970. – 491 с.

2. Пименова, Е. В., Леснов А.Е. Химические методы в агроэкологическом мониторинге почвы : учебное пособие / Е. В. Пименова, А. Е. Леснов. – Пермь : Изд-во ФГОУ ВПО Пермская ГСХА, 2009. – 145 с.

3. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.10-04. Токсикологические методы контроля. Методика определения токсичности проб поверхностных пресных, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных вытяжек из почвы, осадков сточных вод и отходов по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer). – Москва : МПР России, 2004. – 25с.

4. ПНД Ф Т 14.1:2:3:4.9-02. Токсикологические методы контроля. Методика определения токсичности вод, водных вытяжек из почв, осадков сточных вод и отходов по изменению уровня флуоресценции хлорофилла и численности клеток водоросли. – Москва : МПР России, 2002. – 23 с.

5. ГОСТ Р 51592–2000. Вода. Общие требования к отбору проб. – Москва : Стандартинформ, 2008. – 28 с.

6. ГОСТ 17.1.5.05–85. Охрана природы. Гидросфера. Общие требования к отбору проб поверхностных и морских вод, льда и атмосферных осадков. – Москва : Стандартинформ, 1986. – 316 с.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 2. Определение содержания подвижного фосфора в почвах по методу Кирсанова

### 1. Принцип метода

Метод основан на способности фосфат-иона образовывать с молибдатом аммония в кислой среде фосфорно-молибденовую гетеро-поликислоту (ФМК).

При добавлении восстановителя к раствору ФМК входящий в ее состав шестивалентный молибден восстанавливается до пятивалентного; при этом образуется фосфорно-молибденовая синь, и раствор окрашивается в сине-голубой цвет. По интенсивности окраски фотометрически определяют содержание фосфора в исследуемом растворе.

Извлечение подвижных фосфатов из почвы проводят раствором соляной кислоты с молярной концентрацией эквивалента  $0,2 \text{ моль/дм}^3$  при соотношении почва : раствор равном 1 : 5.

Процедура подготовки почв описана в Лабораторной работе 1.

### 2. Оборудование, материалы, реактивы

В лабораторной работе используются следующие материалы, реактивы и оборудование:

- весы лабораторные;
- ротатор или магнитная мешалка;
- фотоэлектроколориметр КФК-3 (или аналогичный);
- колбы конические вместимостью  $100 \text{ см}^3$ ;
- колбы мерные вместимостью 100 и  $50 \text{ см}^3$ ;
- воронки стеклянные или пластиковые;
- пипетки вместимостью  $5 \text{ см}^3$ ;
- раствор  $\text{HCl}$  с молярной концентрацией  $0,2 \text{ моль/дм}^3$ ;
- раствор А – 6 г молибденовокислого аммония растворяют в  $200 \text{ см}^3$  дистиллированной воды. Навеску  $0,145 \text{ г}$  сурьмяно-виннокислого калия растворяют в  $100 \text{ см}^3$  дистиллированной воды. Оба раствора готовят при слабом нагревании. Охлажденные растворы приливают к  $500 \text{ см}^3$  раствора  $0,5 \text{ н}$  серной кислоты. Тщательно перемешивают и доводят объем до  $1 \text{ дм}^3$  дистиллированной водой. Раствор А хранят в склянке из темного стекла;
- раствор Б –  $0,887 \text{ г}$  аскорбиновой кислоты растворяют в  $168 \text{ см}^3$  раствора А и доводят объем дистиллированной водой до  $1 \text{ дм}^3$ . Раствор готовят в день проведения анализа;
- раствор калия фосфорнокислого однозамещенного с содержанием  $0,1 \text{ мг } \text{P}_2\text{O}_5$  в  $1 \text{ см}^3$  (исходный градуировочный раствор);
- фильтры бумажные «синяя» или «зеленая лента».

## 3. Методика выполнения измерений

### 3.1. Приготовление серии градуировочных растворов.

3.1.1. Для получения *рабочего градуировочного раствора*  $\text{KN}_2\text{PO}_4$  с содержанием  $0,01 \text{ мг P}_2\text{O}_5$  в  $1 \text{ см}^3$  аликвоту  $10 \text{ см}^3$  исходного градуировочного раствора помещают в мерную колбу вместимостью  $100 \text{ см}^3$ , доводят до метки водой и тщательно перемешивают.

Приготовленный рабочий раствор хранят не более двух дней, так как под действием микроорганизмов он может легко менять свою концентрацию.

3.1.2. Для приготовления *серии градуировочных растворов*  $\text{KN}_2\text{PO}_4$  в мерные колбы вместимостью  $100 \text{ см}^3$  помещают аликвоты рабочего градуировочного раствора, приведенные в табл. 2, и доводят до метки раствором Б.

Таблица 2

Серия градуировочных растворов  $\text{KN}_2\text{PO}_4$

№ раствора	1	2	3	4	5
Аликвота рабочего раствора, $\text{см}^3$	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
Содержание $\text{P}_2\text{O}_5$ , $\text{мг}/100 \text{ см}^3$	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10

После появления синего окрашивания раствора дают выдержку в течение 10 мин для полного развития окраски. Затем измеряют оптическую плотность раствора при длине волны  $670 \text{ нм}$  в кювете толщиной  $1 \text{ см}$ . Окраска раствора устойчива в течение 24 ч. Строят градуировочный график зависимости оптической плотности от содержания  $\text{P}_2\text{O}_5$  в серии градуировочных растворов.

### 3.2. Определение содержания подвижного фосфора в образцах почв.

На технических весах берут навеску  $10 \text{ г}$  воздушно-сухой почвы, помещают в коническую колбу вместимостью  $100 \text{ см}^3$  и приливают  $50 \text{ см}^3$  раствора  $\text{HCl}$  с концентрацией  $0,2 \text{ моль}/\text{дм}^3$ . Взбалтывают на ротаторе 1 мин, дают отстояться  $10 - 15 \text{ мин}$  и отфильтровывают.

В мерную колбу вместимостью  $100 \text{ см}^3$  помещают аликвоту фильтрата  $5 \text{ см}^3$  и доводят до метки раствором Б. Далее поступают как описано в п. 3.1.2.

Содержание подвижных соединений фосфора в пересчете на  $\text{P}_2\text{O}_5$  рассчитывается (в  $\text{мг}/100 \text{ г}$  почвы) по формуле

$$\text{P}_2\text{O}_5 = \frac{a \times p \times 100}{n}, \quad (2)$$

где  $a$  – количество фосфора в пересчете на  $\text{P}_2\text{O}_5$ , найденное по градуировочному графику,  $\text{мг}$ ;

p – разведение;  
n – навеска почвы, г.

Определение проводят в трех параллельных измерениях. Результаты обрабатывают общепринятыми методами математической статистики.

### *Используемая литература*

1. Аринушкина, Е. В. Руководство по химическому анализу почв. – Москва : Изд-во Московского университета, 1970. – 491 с.
2. Практикум по агрохимии / Под. ред. В. Г. Минеева. – Москва : Изд-во МГУ, 1989. – 304 с.
3. ГОСТ Р 54650–2011. Почвы. Определение подвижных соединений фосфора и калия по методу Кирсанова в модификации ЦИНАО. – Москва : Стандартиформ, 2013. – 10 с.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 3.

### Определение химического состава минерализованных вод

Химический состав минерализованной воды определяется растворенными в ней ионами минеральных солей, основными из которых являются ионы, относящиеся к группе главных ионов по классификации Алекина.

Это катионы натрия ( $\text{Na}^+$ ), калия ( $\text{K}^+$ ), кальция ( $\text{Ca}^{2+}$ ) и магния ( $\text{Mg}^{2+}$ ), а также хлорид ( $\text{Cl}^-$ ), сульфат ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) и гидрокарбонат ( $\text{HCO}_3^-$ ) анионы. Важным компонентом минеральной воды является углекислый газ.

#### 1. Определение содержания катионов кальция и магния

Определение катионов кальция и магния в воде проводят методом комплексонометрии, который основан на их взаимодействии с комплексоном III (трилоном Б) с образованием прочных комплексных соединений в определенном интервале значений рН.

Определение ионов кальция проводят в щелочной среде в интервале значений рН 12–13 с использованием индикатора калькон. При этом значении рН катион магния находится в растворе в виде осадка гидроксида магния и не вступает в реакцию комплексообразования с комплексоном III.

При значении рН, равном приблизительно 10, катионы кальция и магния находятся в растворе в виде ионов и при добавлении комплексона III одновременно вступают с ним в реакцию комплексообразования. Для фиксации конечной точки титрования используют индикатор эриохром черный Т.

Для определения объема трилона Б, затраченного на титрование катионов магния, из суммарного объема, пошедшего на титрование смеси при рН  $\approx 10$ , вычитают объем, пошедший на титрование катионов кальция при рН  $\approx 12$ .

Для создания рН  $\approx 12$  используют раствор гидроксида натрия с молярной концентрацией 2 моль/дм<sup>3</sup>. Для создания рН  $\approx 10$  используют аммиачный буферный раствор.

#### 2. Оборудование, материалы, реактивы

В лабораторной работе используются следующие материалы, реактивы и оборудование:

- бюретка мерная вместимостью 50 см<sup>3</sup>;
- пипетки мерные вместимостью 25, 50 и 100 см<sup>3</sup>;
- колбы стеклянные лабораторные конические вместимостью 250 см<sup>3</sup>;
- холодильник стеклянный лабораторный;
- плитка электрическая;
- воронки стеклянные;

- раствор трилона Б с молярной концентрацией 0,05 моль/дм<sup>3</sup>;
- аммиачный буферный раствор с рН ≈ 10;
- раствор гидроксида натрия с молярной концентрацией 2 моль/дм<sup>3</sup>;
- раствор соляной кислоты с молярной концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup>;
- метиловый красный;
- калькон, индикаторная смесь;
- эриохром черный Т, индикаторная смесь.

### 3. Методика выполнения измерений содержания катионов кальция

В коническую колбу вместимостью 250 см<sup>3</sup> помещают аликвоту от 10 до 100 см<sup>3</sup> (в зависимости от предполагаемого содержания кальция) анализируемой минеральной воды, разбавляют дистиллированной водой до 100 см<sup>3</sup> и нейтрализуют раствором соляной кислоты концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> по индикатору метиловому красному до появления розовой окраски раствора.

Для удаления растворенного углекислого газа в колбу добавляют еще 1 см<sup>3</sup> соляной кислоты, закрывают стеклянной воронкой (или используют обратный холодильник) и кипятят в течение 5 минут.

После охлаждения раствора до комнатной температуры для создания рН в интервале значений от 12 до 13 добавляют 2 см<sup>3</sup> раствора гидроксида натрия концентрацией 2 моль/дм<sup>3</sup>. В качестве индикатора используют калькон, при добавлении которого анализируемый раствор окрашивается в розовый цвет.

Анализируемую пробу медленно титруют раствором трилона Б концентрацией 0,05 моль/дм<sup>3</sup> до перехода окраски раствора из розовой в синюю. Массовую концентрацию ионов кальция ( $X_{Ca}$ ), мг/дм<sup>3</sup>, вычисляют по формуле

$$X_{Ca} = \frac{V_1 \cdot M \cdot 40,08 \cdot 1000}{V_2}, \quad (3)$$

где  $V_1$  – объем раствора трилона Б, пошедший на титрование, см<sup>3</sup>;

$M$  – молярная концентрация трилона Б, моль/дм<sup>3</sup>;

40,08 – молярная масса иона кальция, г/моль;

$V_2$  – объем минеральной воды, взятый на анализ, см<sup>3</sup>.

Определение проводят в трех параллельных измерениях. Результаты обрабатывают общепринятыми методами математической статистики.

### 4. Методика выполнения измерений содержания катионов магния

В коническую колбу вместимостью 250 см<sup>3</sup> помещают аликвоту от 10 до 100 см<sup>3</sup> (аликвоту берут такую же, как и в случае определения катионов кальция) анализируемой минеральной воды, разбавляют дистиллированной

водой до  $100 \text{ см}^3$  и нейтрализуют раствором соляной кислоты концентрацией  $0,1 \text{ моль/дм}^3$  по индикатору метиловому красному до появления розовой окраски раствора.

Для удаления растворенного углекислого газа в колбу добавляют еще  $1 \text{ см}^3$  соляной кислоты, закрывают стеклянной воронкой (или используют обратный холодильник) и кипятят в течение 5 минут.

После охлаждения раствора до комнатной температуры для создания  $\text{pH} \approx 10$  добавляют  $10 \text{ см}^3$  аммиачного буферного раствора. В качестве индикатора используют эриохром черный Т, при добавлении которого анализируемый раствор окрашивается в винно-красный цвет.

Анализируемую пробу медленно титруют раствором трилона Б концентрацией  $0,05 \text{ моль/дм}^3$  до перехода окраски раствора из винно-красной в зеленую.

Массовую концентрацию катионов магния ( $X_{Mg}$ ),  $\text{мг/дм}^3$ , вычисляют по формуле

$$X_{Mg} = \frac{(V_1 - V_2)M \cdot 24,30 \cdot 1000}{V_3}, \quad (4)$$

где,  $V_1$  – объем раствора трилона Б, пошедший на титрование суммы кальция и магния,  $\text{см}^3$ ;

$V_2$  – объем раствора трилона Б, пошедший на титрование кальция,  $\text{см}^3$

$M$  – молярная концентрация трилона Б,  $\text{моль/дм}^3$ ;

24,30 – молярная масса катиона магния,  $\text{г/моль}$ ;

$V_3$  – объем минеральной воды, взятый на анализ,  $\text{см}^3$ .

Определение проводят в трех параллельных измерениях. Результаты обрабатывают общепринятыми методами математической статистики.

### *Используемая литература*

1. ГОСТ 23268.5–78. Воды минеральные питьевые лечебные, лечебно-столовые и природные столовые. Методы определения ионов кальция и магния. – Москва : Изд-во стандартов, 2013.

2. Фокина, А. И. Курс лекций по аналитической химии (химические методы анализа) : учебное пособие / А. И. Фокина. – Киров : ВятГУ, 2017. – 308 с. – URL: <https://e.lanbook.com/book/134609> (дата обращения: 10.10.2023).

3. Аналитическая химия и физико-химические методы анализа : учебное пособие / Г. Н. Дударева, Е. А. Анциферов, Л. А. Бегунова, В. И. Дударев. – Иркутск : ИРНИТУ, 2018. – 196 с. – ISBN 978-5-8038-1315-6. – URL: <https://e.lanbook.com/book/216926> (дата обращения: 10.10.2023).

## **5. Определение содержания гидрокарбонат-анионов в минерализованных водах**

Титриметрическое определение гидрокарбонат-анионов в природных водах основано на реакции кислотно-основного равновесия. При анализе вод, содержащих углекислый газ, проводят их предварительную дегазацию.

При подготовке к данному разделу лабораторной работы, обучающиеся самостоятельно по литературным источникам изучают теоретические основы данного метода химического анализа, находят методику определения гидрокарбонат-ионов, изучают ее и составляют алгоритм ее практического выполнения, расчета и обработки полученных экспериментальных данных.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 4.

### Определение аскорбиновой кислоты в растительных объектах

Для оценки состояния лесных насаждений, в частности древостоев сосны обыкновенной, используют комплекс физиолого-биохимических показателей, характеризующих пигментный аппарат, водный обмен, защитную антиоксидантную систему.

К защитным веществам клетки против стрессового воздействия на организм, в том числе и техногенного характера, относят и аскорбиновую кислоту. Поэтому ее содержание в хвое может быть одним из показателей активности антиоксидантной системы, направленной на снижение скорости процесса перекисного окисления липидов.

В биологических системах антиоксидантами называются вещества, способные ингибировать процессы свободнорадикального окисления, которые инициируются в клетках стрессовыми факторами разного происхождения.

Антиоксидантная система организма обеспечивает определенный баланс между образованием и разрушением активной формы кислорода, тем самым контролирует уровень перекисного окисления липидов, протекающего по свободнорадикальному механизму, и препятствует накоплению гидроперекисей, обладающих высокой токсичностью.

Одним из наиболее активных антиоксидантов является аскорбиновая кислота, которая находится в водной фазе клетки. В растениях она содержится в достаточно большом количестве и играет очень важную роль, оказывая существенное влияние на некоторые физиологические процессы растений, включая рост, дифференциацию тканей и органов, метаболизм.

Наравне с глутатионом, аскорбиновая кислота перехватывает свободные радикалы, восстанавливает активную форму кислорода и продукты окисления мембран. Основной антиоксидантный эффект этих соединений реализуется посредством их участия в работе ферментов, субстратами которых они являются.

В комплексе с другими физиолого-биохимическими характеристиками уровень накопления аскорбиновой кислоты в ассимиляционных органах растения может быть маркером их состояния в условиях техногенной нагрузки.

Методика определения аскорбиновой кислоты (АК) основана на ее редуцирующих свойствах. Раствор 2,6-дихлорфенолиндофенола (или 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия) синей окраски восстанавливается в бесцветное соединение экстрактами растений, содержащих аскорбиновую кислоту (реакция Тильманса).

## 1. Оборудование, материалы, реактивы

В лабораторной работе используются следующие материалы, реактивы и оборудование:

- бюретка мерная вместимостью 25 см<sup>3</sup>;
- пипетки мерные вместимостью 5 и 25 см<sup>3</sup>;
- колбы мерные вместимостью 100 см<sup>3</sup>;
- колбы стеклянные лабораторные конические вместимостью 250 см<sup>3</sup>;
- цилиндры стеклянные мерные вместимостью 50 и 100 см<sup>3</sup>;
- раствор соляной кислоты с массовой долей 2 %;
- раствор щавелевой кислоты с массовой долей 1 %;
- раствор серной кислоты с массовой долей 2 %;
- раствор иодата калия с молярной концентрацией эквивалента 0,001 моль/дм<sup>3</sup>;
- раствор 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (краска Тильманса) с молярной концентрацией эквивалента 0,001 моль/дм<sup>3</sup>;
- раствор крахмала с массовой долей 1 %;
- кислота аскорбиновая квалификации х. ч. или о. с. ч.;
- ступка фарфоровая с пестиком;
- порошок стеклянный.

## 2. Методика выполнения измерений содержания аскорбиновой кислоты в хвое сосны

### 2.1. Установка титра краски Тильманса по аскорбиновой кислоте

Несколько кристаллов (около 1–1,5 мг) аскорбиновой кислоты растворяют в 50 см<sup>3</sup> 2 %-ной серной кислоты. Затем аликвоту 5 см<sup>3</sup> этого раствора титруют раствором краски Тильманса до появления устойчивой розовой окраски.

Сразу же после этого другую аликвоту раствора (5 см<sup>3</sup>) титруют из другой бюретки 0,001 н раствором иодата калия. При этом в колбу добавляют несколько кристаллов (около 5–10 мг) иодида калия и 5 капель 1 %-ного раствора крахмала. Добавление более высоких количеств иодида калия сильно тормозит окисление аскорбиновой кислоты. Титрование ведут до появления синей окраски.

Расчет титра краски Тильманса по аскорбиновой кислоте проводят по следующей формуле:

$$T = \frac{0,088 \cdot a}{6}, \quad (5)$$

где  $a$  – объем 0,001 н раствора иодата калия, пошедшего на титрование, см<sup>3</sup>;

$b$  – объем краски Тильманса, пошедшей на титрование,  $\text{см}^3$ ;  
0,088 – количество аскорбиновой кислоты, соответствующее 1  $\text{см}^3$ ;  
0,001 н раствора  $\text{KJ}\text{O}_3$ , мг.

## 2.2. Определение содержания аскорбиновой кислоты в хвое сосны

Навеску хвои массой 0,5 г измельчают и сразу же заливают в ступке небольшим количеством 2 %-ного раствора соляной кислоты (общий объем раствора соляной кислоты составляет 20 мл), добавляют кварцевый песок и растирают до образования гомогенной массы.

Полученную массу остатками раствора соляной кислоты и раствором 1 %-ной щавелевой кислоты количественно переносят в мерную колбу (или цилиндр) вместимостью 100  $\text{см}^3$  и доводят метки раствором щавелевой кислоты. Содержимое колбы хорошо перемешивают и фильтруют в сухой стакан или колбу. Возможно простое отстаивание суспензии в случае использования мерных цилиндров.

Аликвоту вытяжки 25  $\text{см}^3$  титруют раствором краски Тильманса до появления устойчивого розового окрашивания, не исчезающего в течение 0,5–1 минуты.

Соляная кислота извлекает из растительной ткани как свободную, так и связанную АК. Щавелевая кислота улучшает стойкость АК в экстрактах, что позволяет при необходимости отложить титрование на несколько часов.

Количество аскорбиновой кислоты ( $W$ , мг % или %) в образце хвои вычисляют по формуле

$$w = \frac{V \cdot T \cdot V_k}{V_a \cdot m} \cdot 100, \quad (6)$$

где  $V$  – объем краски Тильманса, пошедший на титрование вытяжки,  $\text{см}^3$ ;

$T$  – титр краски Тильманса, мг АК;

$V_k$  – общий объем вытяжки,  $\text{см}^3$ ;

$V_a$  – аликвота вытяжки,  $\text{см}^3$ .

Определение проводят в трех параллельных измерениях. Результаты обрабатывают общепринятыми методами математической статистики.

### *Используемая литература*

1. Химический анализ лесного растительного сырья / В. А. Крючков, Г. Н. Новоселова, И. П. Степанова. – Свердловск : УЛТИ, 1988. – 74 с.
2. Методы биохимического исследования растений / А. И. Ермаков, В. В. Арасимович, М. И. Смирнова-Иконникова. – Москва, 1972. – 455 с.

## ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 5.

### Определение плодородия почв с помощью индикаторных бумаг

Экспресс-метод определения плодородия почв основан на использовании индикаторных бумаг, которые изменяют цвет или образуют соединения пропорционально содержанию в почве определяемых элементов минерального питания. Данная методика позволяет проводить определение уровня минерального питания почв в полевых условиях.

Для определения аммонийного и нитратного азота, фосфора и калия навеску массой 6,5 г умеренно влажной почвы помещают в фарфоровую чашку, добавляют 1 см<sup>3</sup> раствора соляной кислоты с молярной концентрацией эквивалента 0,5 моль/дм<sup>3</sup> и хорошо перемешивают фарфоровой или стеклянной лопаточкой в течение двух минут до образования густой пастообразной массы. В случае сухой почвы берут навеску массой 5 г и добавляют к ней 2 см<sup>3</sup> раствора соляной кислоты с молярной концентрацией эквивалента 0,2 моль/дм<sup>3</sup>. В полевых условиях можно использовать для взятия навески почвы откалиброванный тигель или пробирку.

Для определения кислотной реакции (рН солевой почвенной вытяжки) навеску умеренно влажной почвы массой 6,5 г смешивают с 1 см<sup>3</sup> воды, добавляют 0,1 г хлорида натрия (NaCl) и тщательно перемешивают в течение двух минут. В случае сухой почвы навеску массой 5 г перемешивают с 2 см<sup>3</sup> воды с добавлением 0,1 г хлорида натрия.

Пастообразную массу почвы наносят стеклянной лопаточкой на полоску (2 × 2 см) соответствующей индикаторной бумаги в таком количестве, чтобы получить почвенный отпечаток размером 0,5 см<sup>2</sup>.

Определение уровня обеспеченности почвы элементами минерального питания проводят, руководствуясь табл. 3 и цветной шкалой.

Таблица 3

Режим проведения реакции при определении элементов минерального питания методом индикаторных бумаг

Открываемый ион	Режим проведения реакции	Окраска пятна
$NO_3^-$	Делают почвенный отпечаток. Окраску оценивают через 1,5–2 минуты	От розового до красного
$NH_4^+$	Влажной гранулой <i>KOH</i> протирают индикаторную бумагу на площади 0,5 см <sup>2</sup> . Наносят на нее комочек пастообразной почвы. Окраску пятна оценивают через две минуты	От желтого до оранжевого

Окончание табл. 3

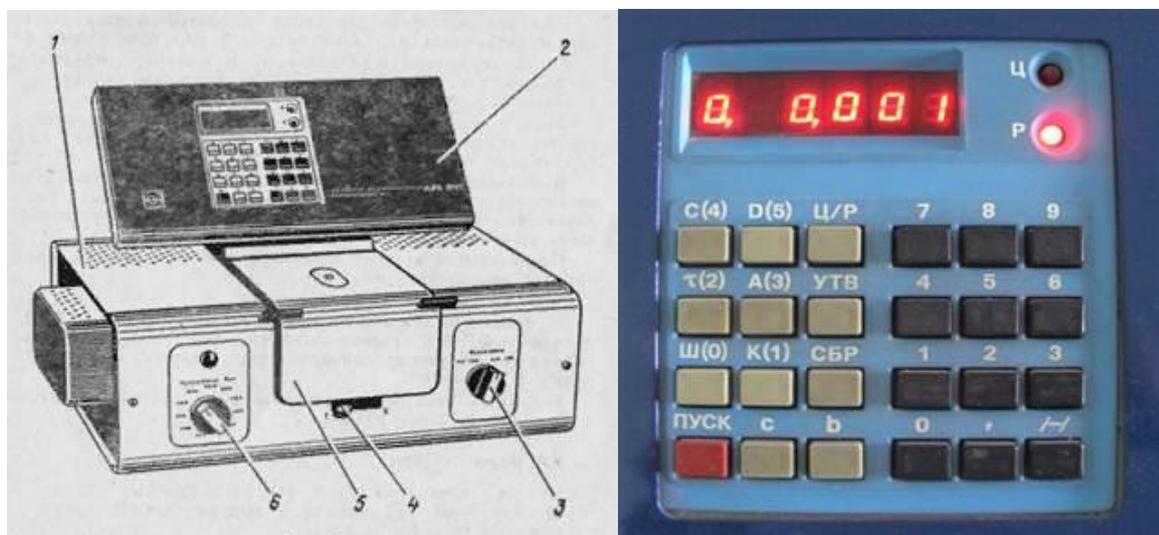
<p><b><math>PO_4^{3-}</math></b></p>	<p>Наносят комочек пастообразной почвы, через 10–15 секунд убирают ее, бумагу переворачивают. Образовавшийся почвенный отпечаток протирают влажной гранулой гидроксида калия (<i>КОН</i>)</p>	<p>От голубого до темно-синего</p>
<p><b><math>K^+</math></b></p>	<p>На индикаторную бумагу наносят комочек пастообразной почвы, через две минуты убирают его. Бумагу промывают водой до тех пор, пока с нее не перестанет стекать желтый раствор. Затем индикаторную бумагу промокают между двумя листами фильтровальной бумаги и оценивают интенсивность окраски пятна</p>	<p>От бледно-желтого до ярко-желтого</p>
<p><b><i>pH</i></b></p>	<p>На соответствующей индикаторной бумаге делают почвенный отпечаток и оценивают окраску пятна.</p>	<p>Вишневая – <math>pH = 4</math>                  Красная – <math>pH = 5</math>                  Желтая – <math>pH = 6</math>                  Желто-зеленая – <math>pH = 7</math>                  Зеленая – <math>pH = 8</math>                  Сине-зеленая – <math>pH = 9</math></p>

## ПРИЛОЖЕНИЕ

Принцип действия фотоэлектроколориметра основан на поочередном измерении светового потока  $J_0$ , прошедшего через раствор сравнения, и потока  $J$ , прошедшего через окрашенный раствор.

Световые потоки  $J_0$  и  $J$  попадают на фотоприемники и преобразуются в электрические сигналы  $U_0$  и  $U$ , которые обрабатываются на микро ЭВМ фотоэлектроколориметра и представляются на цифровом табло в виде коэффициента пропускания, оптической плотности, концентрации, активности. Общий вид колориметра приведен на рис.

Для проведения измерений раствор сравнения и исследуемый раствор наливают в идентичные кюветы до метки. Рабочие поверхности кювет должны быть чистыми, к ним нельзя прикасаться руками.



Фотоэлектроколориметр КФК-2МП: 1 – колориметрический блок;  
2 – вычислительный блок с клавиатурой управления; 3 – ручка переключателя фотоприемников; 4 – ручка перемещения каретки с кюветами;  
5 – крышка кюветного отделения; 6 – ручка переключателя светофильтров

### Алгоритм работы на приборе КФК- 2МП

1. Включить прибор в сеть 220 В с помощью шнура.
2. Открыть крышку кюветного отделения 5.
3. Включить тумблер «сеть» (тыльная сторона прибора) – на цифровом табло загорается сигнальная лампа.
4. Нажать клавишу «пуск» – на цифровом табло появляется мигающая запятая и горит индикатор «Р». Если запятая не появилась, повторно нажать клавишу «пуск». Выдержать колориметр в таком состоянии 15 минут.
5. Ручкой 6 установить необходимую длину волны, а ручкой 3 – нужный фотоприемник.

6. При открытой крышке кюветного отделения нажать клавишу «Ш(0)». На цифровом табло справа от мигающей запятой высвечивается значение «нулевого отсчета», а слева – символ «0».

После этого можно приступить к измерениям. Измерение оптической плотности производится в следующем порядке:

1. В кюветное отделение установить кюветы с растворителем и исследуемым раствором. (Кювета с раствором сравнения устанавливается в дальнее гнездо кюветодержателя, а кювета с исследуемым раствором в ближнее гнездо кюветодержателя). Ручкой 6 установить необходимый светофильтр, ручкой 3 установить нужный фотоприемник.

2. Ручку 4 установить в положение «1» (в световой пучок вводится кювета с раствором сравнения).

3. Закрыть крышку кюветного отделения, нажать клавишу «К(1)». На цифровом табло слева от мигающей запятой загорается символ «1».

4. Затем ручку 4 установить в положение «2» (в световой пучок вводится кювета с исследуемым раствором).

5. Нажать клавишу «D(5)». На цифровом табло слева от мигающей запятой появляется символ «5», означающий, что произошло измерение оптической плотности. Отсчет на цифровом табло справа от мигающей запятой соответствует оптической плотности исследуемого раствора.

Операцию по п. п. 1...5 следует провести 3–5 раз. Оптическую плотность определить как среднее арифметическое полученных значений.

По окончании измерений кюветы необходимо извлечь из кюветодержателя, тщательно промыть дистиллированной водой и просушить фильтровальной бумагой.