

Российская академия наук
Министерство образования и науки Российской Федерации
Бурятский государственный университет

Намсараев Б.Б., Бархутова Д.Д., Хахинов В.В.

**ПОЛЕВОЙ ПРАКТИКУМ
ПО ВОДНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ГИДРОХИМИИ**

Ответственный редактор
д-р.биол. наук
проф. М.Б. Вайнштейн

Улан-Удэ
Издательство Бурятского госуниверситета
2006

УДК 576.8 (28): 577.4 (022)
П 491

Утверждено к печати
редакционно-издательским советом
Бурятского государственного
университета

Рецензенты

Г.А. Дубинина, д-р биол. наук, проф., гл. научн. сотр. ИНМИ РАН
С.В. Пронина, д-р биол. наук, проф. БГУ
С.Ц. Ханхасаева, канд. хим. наук, ст. научн. сотр. БИП СО РАН

Полевой практикум по водной микробиологии и гидрохимии: Методическое пособие / Намсараев Б.Б., Бархутова Д.Д., Хахинов В.В; Отв. Ред. М.Б.Вайнштейн. – Москва - Улан-Удэ: Издательство Бурятского госуниверситета, 2006. – 68 с.

В методическом пособии представлены основные методы изучения физических, химических, гидрологических и микробиологических показателей воды, донных осадков и микробных матов водных систем. Рассмотрены вопросы организации и проведения экспедиции по изучению водных микроорганизмов и условий их обитания, методы отбора, хранения и консервации проб для полевых и лабораторных исследований.

Пособие предназначено для научных сотрудников, аспирантов и студентов, изучающих экологию микроорганизмов и химию водных систем.

© Намсараев Б.Б., Бархутова Д.Д.,
Хахинов В.В., 2006

© Бурятский госуниверситет, 2006

Оглавление

	Введение.....	6
1	Подготовка к экспедиции	8
1.1.	Составление плана полевых работ.....	9
1.2.	Приготовление реактивов для определения скорости микробных процессов.....	11
2	Организация экспедиции	14
2.1.	Описание места отбора проб.....	14
2.2.	Описание воды, осадков, микробных матов, минеральных отложений, льда и почвы.....	15
2.3.	Описание водоема.....	15
3.	Определение физико-химических показателей	17
3.1.	Определение прозрачности и освещенности водоема...	17
3.2.	Определение температуры.....	18
3.3.	Определение pH.....	18
3.4.	Определение минерализации.....	18
3.5.	Определение окислительно- восстановительного потенциала (ОВП).....	18
3.6.	Определение щелочности.....	19
3.7.	Определение свободной окиси углерода (углекислоты).....	19
3.8.	Определение в воде количества карбонатов и гидрокарбонатов.....	20
3.9.	Определение общей жесткости воды.....	21
3.10.	Определение растворённого в воде кислорода по методу Винклера.....	22
3.11.	Определение биологического потребления кислорода (БПК).....	23
3.12.	Определение хлоридов.....	23
3.13.	Определение сульфатов.....	25
3.14.	Определение сероводорода и сульфидов.....	25
3.15.	Определение фосфатов.....	26
3.16.	Определение аммиака и ионов аммония.....	27
3.17.	Определение нитратов.....	27
3.18.	Определение нитритов.....	29
3.19.	Определение железа.....	29
3.20.	Определение кремнекислоты.....	30
4	Отбор проб для полевых исследований	30

5	Определение скорости микробных процессов	32
5.1.	Определение скорости фотосинтеза.....	32
5.2.	Определение скорости хемосинтеза.....	36
5.3.	Определение скорости темновой фиксации CO ₂	36
5.4.	Определение скорости аэробной деструкции.....	37
5.5.	Определение скорости анаэробной деструкции.....	37
5.6.	Определение скорости разложения белка.....	38
5.7.	Определение скорости разложения целлюлозы.....	38
5.8.	Определение скорости потребления глюкозы.....	39
5.9.	Определение скорости денитрификации.....	39
5.10.	Определение скорости сульфатредукции.....	40
5.11.	Определение скорости метаногенеза.....	40
5.12.	Определение скорости окисления метана.....	41
5.13.	Определение скорости нитрификации.....	42
5.14.	Определение скорости азотфиксации.....	42
5.15.	Определение скорости ацетогенеза.....	43
5.16.	Определение скорости разложения растительных остатков.....	43
6	Микробиологический анализ	43
6.1.	Изучение микробного пейзажа.....	45
6.2.	Определение ферментативной активности.....	45
6.3.	Отбор проб для микробиологического анализа в лаборатории.....	46
6.4.	Определение общей численности бактерий.....	46
6.5.	Посев на элективные культуральные среды.....	46
6.6.	Выявление и учет спорных бактерий.....	47
6.7.	Выявление и учет эпифитных бактерий.....	47
7	Отбор проб для лабораторных микробиологических и физико-химических исследований	47
7.1.	Консервация проб.....	47
7.2.	Отбор проб для молекулярно-биологических исследований.....	49
7.3.	Отбор проб для определения влажности.....	49
7.4.	Отбор проб для определения и анализа органического вещества (C _{орг}).....	49
7.5.	Отбор проб воды для определения ионного состава.....	50
7.6.	Отбор проб для определения сероводорода и сульфидов.....	50

7.7.	Отбор проб для определения хлорофилла.....	50
7.8.	Отбор проб для определения концентрации газов.....	51
7.9.	Отбор проб для определения изотопного состава углерода, кислорода и серы, изучения минералов.....	51
7.10.	Отбор проб иловой воды для химического анализа.....	51
7.11.	Отбор проб растений для химического анализа, определения видового состава и биомассы.....	52
7.12.	Отбор проб воды, донных осадков и породы для определения радиоактивности.....	52
8	Обработка и анализ результатов	52
	Заключение.....	54
	Список использованной литературы.....	55
	Приложение 1. План работы на водоеме.....	57
	Приложение 2. Правила безопасности в экспедиции.....	58
	Приложение 3. Протокол исследования.....	59
	Приложение 4. Научное оборудование.....	60
	Приложение 5. Список химических реактивов.....	60
	Приложение 6. Кислотно-основные индикаторы.....	62
	Приложение 7. Эквивалентные веса и коэффициенты для пересчета мг/л в мг-экв/л и обратно.....	63
	Приложение 8. Коэффициенты пересчета ионов на элементы.....	64
	Приложение 9. Экспедиционное оборудование.....	64
	Приложение 10. Аптечка.....	65
	Приложение 11. Личные вещи (примерный перечень)...	65
	Приложение 12. Продукты.....	66

Введение

Данное пособие является руководством при проведении полевых исследований водных экосистем. В книге приведены гидрологические, физические, химические и микробиологические методы, используемые для изучения водоемов, разнообразия и функциональной активности водных микроорганизмов. Поскольку состав природных вод отражает физико-химические условия их происхождения и их существование в окружающей природной среде, то авторы пособия стремились подчеркнуть сложные генетические связи между гидрохимическими показателями воды и многочисленными факторами, определяющими ее состав. Описаны современные методы гидрохимических исследований на водных объектах с прикладной направленностью (Алекин, 1970; Муравьев, 1999).

На формирование состава природных вод оказывает влияние органическая жизнь в воде, а химический состав в свою очередь влияет на жизнедеятельность и экологию населяющих ее организмов, в том числе микроорганизмов. Важнейшей функцией микроорганизмов водных систем является их участие в круговороте химических элементов, процессах продукции и деструкции органического вещества, образовании и потреблении газов, минералообразовании и изменении физико-химических показателей водных систем.

Широкое распространение микроорганизмов, их способность функционировать в аэробных и анаэробных условиях, адаптация к экстремальным условиям среды позволяет им участвовать в биогеохимических процессах в пресных, соленых и содовых озерах, холодных и термальных минеральных источниках, реках и болотах. В свою очередь, геолого-географические особенности местности, физические условия и химический состав вод во многом определяют структурно-функциональную организацию биоты водоема, в том числе и микробного сообщества.

Изучению деятельности водных микроорганизмов посвящены многочисленные работы (Zobell, 1946; Исаченко, 1951; Крисс, 1959; Кузнецов и др., 1962; Кузнецов, 1970; Заварзин, 1972; Горленко и др., 1977; Иванов, Френей, 1983; Кузнецов и др., 1985;

Заварзин, 2003 и др.). Проведенные в пресных и соленых водоемах исследования показали, что микроорганизмы распространены по всей толще воды и донных отложений. Активная деятельность микроорганизмов наблюдается в фотической зоне, хемо- и термоклине водной толщи, верхних горизонтах донных отложений, районах выхода холодных и термальных источников. Роль микроорганизмов особенно возрастает в анаэробных зонах водоемов, где они являются основными агентами, способными к осуществлению биохимических реакций.

При исследовании деятельности микроорганизмов наиболее информативным является комплексное изучение физико-химических, гидрологических и микробиологических показателей в одних и тех же пробах воды и донных осадков. Изучение среды обитания, закономерностей распространения и активности физиологических групп микроорганизмов и микробных сообществ целесообразно проводить по следующей схеме:

1. Определение физико-химических параметров среды обитания.
2. Определение численности микроорганизмов, изучение их видового состава.
3. Выделение чистых культур бактерий и изучение их физиолого-биохимических свойств.
4. Определение скорости микробных процессов.
5. Оценка роли микроорганизмов в функционировании экосистемы водоемов.

Для количественной характеристики микробной деятельности широко используются методы селективных сред, световой и электронной микроскопии, иммунофлуоресценции, молекулярной генетики, радиоизотопии, газовой и жидкостной хроматографии, аналитической химии, масс-спектрометрии и т.д. (Романенко, Кузнецов, 1974; Вайнштейн, Лауринвичус, 1988; Кузнецов, Дубинина, 1989; Громов, Павленко, 1987; Sorokin, 1999; Нетрусов и др., 2004 и др.). При составлении настоящего методического пособия использованы известные лабораторные руководства по гидрохимии и микробиологии, которые приведены в списке использованной литературы.

Основная цель пособия – помочь научным сотрудникам, аспирантам и студентам овладеть методами полевых исследований

по гидрохимии и экологии микроорганизмов, отбора проб и подготовки их к лабораторным исследованиям. Для получения сравнительного материала по мониторингу экологического состояния водоемов желательное использование унифицированных методов работы на всех этапах исследования: от отбора проб до получения результатов и их анализа. Проведение гидрохимических и микробиологических исследований водных систем включает несколько этапов: подготовку к экспедиции, отбор проб и постановка экспериментов в полевых условиях, обработка проб в лабораторных условиях и анализ полученных результатов.

Пособие предназначено для научных сотрудников, аспирантов и студентов, может быть полезным преподавателям и учащимся средних школ.

1. Подготовка к экспедиции

Успех выполнения плана научно-исследовательской работы во многом зависит от подготовительного этапа экспедиции, который включает составление плана работ, сбор и проверку научного и экспедиционного оборудования, экипировки и снаряжения, калибровку приборов, приготовление реактивов, упаковку оборудования и багажа, покупку продуктов питания, укомплектование аптечки. Важное место в процессе подготовки экспедиции занимает ознакомление с географическим расположением и картой местности, литературой, содержащей сведения о водоемах и местности. До начала выхода в маршрут экспедиции необходимо составить предполагаемый график движения отряда с нанесением на карту базовых точек (места отдыха, остановки и т.д.). При составлении плана определяют объем работы, показатели исследования. При подготовке необходимо учитывать условия проведения экспедиции: сухопутные (полевые или на стационарах с электричеством) или водные (на катерах и научно-исследовательских судах), метеорологические условия на данный период. От конкретных условий проведения экспедиций зависит выбор методов работы и методик гидрохимических исследований. Перед экспедицией все участники обязаны пройти инструктаж по технике безопасности. При использовании автомобиля необходимо провести его профилактику и ремонт до начала экспедиции, запастись необходимым количеством топлива.

Примерный список научного и экспедиционного оборудования, медикаментов, личных вещей и продуктов приведен в приложении.

1.1. Составление плана полевых работ

План работы включает цель и задачи исследования, выбор объектов, необходимые показатели физико-химических, гидрологических, биологических и микробиологических исследования, перечень и методы работ, сроки выполнения, маршрут экспедиции, список ответственных сотрудников за определенные этапы подготовки к экспедиции и работ на местности.

Таблица 1

Гидрологическая, геологическая и биологическая характеристика водных систем

Водоем	Показатели
Озеро, болото	Координаты места отбора проб, глубина (максимальная, на месте отбора), площадь, тип осадков, видовой состав водной и прибрежной растительности, водных и околоводных животных
Источник	Координаты места отбора проб, глубина и площадь разлива, длина и ширина ручья, дебит, тип грунтов, видовой состав водной и прибрежной растительности, водных и околоводных животных
Река	Координаты места отбора проб, глубина (максимальная, на месте отбора), ширина, скорость течения, тип осадков, видовой состав водной и прибрежной растительности, водных и околоводных животных

Таблица 2

Физико-химическая характеристика водных систем

Водоем	Показатели
Озеро, источник, болото, река	<p>Температура, рН, минерализация, окислительно-восстановительный потенциал (Eh), прозрачность, общая жесткость, освещенность, радиоактивность воды и пород.</p> <p>Содержание кислорода, карбонатов, сульфатов, сероводорода, сульфидов, хлоридов, органического углерода (C_{орг}), белка, углеводов, липидов, ацетата, аммония, нитратов, фосфатов и др.</p> <p>Изотопный состав органического и неорганического углерода, кислорода и серы воды, осадков и микробных матов.</p>

Таблица 3

Микробиологическая характеристика водных систем

Водоем	Показатели
Озеро, источник, болото, река	<p>Общая численность бактерий, численность сапрофитов, протеолитиков, денитрификаторов, целлюлозолитиков, липолитиков, бродильщиков, сульфатредукторов, метаногенов, метанотрофов, тио- и серобактерий, азотфиксаторов и других физиологических групп микроорганизмов. Видовой состав и численность водорослей и микромицетов, эпифитных бактерий.</p> <p>Скорость микробных процессов: оксигенного и аноксигенного фотосинтеза, темновой фиксации углекислоты, хемосинтеза, разложения белка и целлюлозы, потребления глюкозы, сульфатредукции, ацетогенеза, метаногенеза, окисления метана, денитрификации, нитрификации, азотфиксации.</p> <p>Скорость продукции и деструкции органического вещества.</p> <p>Доминирующие виды микробных матов, активность специфических ферментов, анализ ДНК и РНК, белков и липидов бактерий.</p>

Для изучения структуры и выяснения механизмов функционирования микробного сообщества необходимо определение физико-химических, гидрологических, геологических, биологических и микробиологических показателей водоемов. Перечень основных показателей приведен в табл. 1, 2 и 3.

1.2. Приготовление реактивов для определения скорости микробных процессов

Для выполнения экспедиционных работ на водоемах требуются:

- реактивы, посуда, полевые приборы и оборудование для проведения химического анализа воды в полевых условиях (приложение 5);

- растворы радиомеченых субстратов, фиксаторы и ингибиторы микробных процессов, насыщенный раствор NaCl, посуда и оборудование для применения изотопного метода в полевых условиях;

- посуда, реактивы для отбора и фиксации проб, дистиллированная вода – 2-5 л, стерильная дистиллированная вода – 1-2 л, этиловый спирт – 2-5 л, подсобные инструменты.

Списки радиомеченых субстратов, фиксаторов и ингибиторов микробных процессов приведены в табл. 4 и 5.

Таблица 4

Приготовление растворов радиомеченых субстратов

Радио-меченое вещество	Кол-во исходного раствора, общая активность	Приготовление рабочего раствора*	Активность вводимого в пробу вещества (R)**
1	2	3	4
¹⁴ C-бикарбонат натрия	0,004 г 40 МБК*** (1 мКи)	1 мл (0,004 г) исходного раствора NaH ¹⁴ CO ₃ растворить в 19 мл стерильной щелочной воды (pH = 8,5), фильтровать через фильтр с порами 0,2 мкм. В пробу вводить по 0,1 мл	5 мКи = 11100000 имп/мин

1	2	3	4
¹⁴ C-ацетат натрия	-"-	1 мл исходного раствора растворить в 19 мл стерильной дистиллированной воды (рН = 7). В пробу вводить по 0,1 мл	-"-
¹⁴ C-формиат натрия	-"-	-"-	-"-
¹⁴ C-метиламин	-"-	-"-	-"-
¹⁴ C-U-белок	-"-	-"-	-"-
¹⁴ C-U-глюкоза	-"-	-"-	-"-
¹⁴ C-U-целлюлоза	-"-	1 мл исходного раствора размешать в 19 мл стерильной дистиллированной воды (рН = 7). В пробу вводить по 0,1 мл	Суммарная радиоактивность субстрата и продуктов
³⁵ S-сульфат натрия	40 МБК (1 мКи)	1 мл исходного раствора растворить в 19 мл стерильной дистиллированной воды (рН = 7). В пробу вводить по 0,1 мл	5 мкКи = 11100000 имп/мин
¹⁴ C-метан	1 мл 40 МБК (1 мКи)	Разбавить в 39 мл азота под водой в перевернутом стеклянном флаконе, закрыть резиновой пробкой и закрепить алюминиевой крышкой. При отборе ввести насыщенный раствор NaCl для создания повышенного давления во флаконе. В пробу вводить по 0,1 мл	2,5 мкКи = 5550000 имп/мин

* готовый раствор разливают по 5-10 мл в пенициллиновые флаконы, которые закрывают резиновой пробкой и закатывают алюминиевой крышкой. Проводят пастеризацию: кипятят в течение 30 мин на водяной бане 3 раза с промежутком 12-24 ч;

** параллельно определяют общую радиоактивность в аликвоте;

*** 40 МБК = 1 мКи = 2 220 000 000 имп/мин;

0,1 мКи = 222 000 000 имп/мин;

1 мКи = 2 220 000 имп/мин.

Таблица 5

Фиксаторы и ингибиторы микробных процессов

Процесс	Фиксатор* или ингибитор**	Концентрация	Рабочая доза на пробу
Оксигенный фотосинтез	Формалин*	40%	0,2 мл на 10 мл
Темновая фиксация CO ₂	-"-	-"-	-"-
Разложение белка	-"-	-"-	-"-
Разложение целлюлозы	-"-	-"-	-"-
Потребление глюкозы	-"-	-"-	-"-
Окисление CH ₄	-"-	-"-	-"-
Аноксигенный фотосинтез	Диурон**	0,0023 мг/мл	0,1 мл на 10 мл
	Формалин*	40%	0,2 мл на 10 мл
Хемосинтез	Азид Na**	0,7 мг/мл	0,1 мл на 10 мл
	Формалин*	40%	0,2 мл на 10 мл
Денитрификация	Ацетилен**	0,1 мл /мл	1 мл на 10 мл
	Формалин*	40%	0,2 мл на 10 мл
Сульфатредукция	Ацетат Cd или Zn*	2,5% ацетат Cd или 5% ацетат Zn	0,1 мл на 10 мл
Метаногенез	Формалин*	40%	0,2 мл на 10 мл
	NaOH или KOH*	10 N	0,2 мл на 10 мл
Нитрификация	Нитрапирин**	0,05%	0,1 мл на 10 мл
	Формалин*	40%	0,2 мл на 10 мл
Азотфиксация	Ацетилен**	100%	1 мл на 10 мл
	Формалин*	40%	0,2 мл на 10 мл

2. Организация экспедиции

Выбор безопасного маршрута до водоема позволит в краткие сроки прибыть на место исследования. Сразу по прибытии необходимо обустроить лагерь, удобный для работы и ночевки. Вблизи лагеря желательно наличие питьевой воды, дров, кустов, леса или оврага. При размещении палаток и кухни необходимо учитывать погодные изменения (дождь, грозу, ветер, снег, пургу и т.д.).

Полевые исследования включают измерение гидрологических и физико-химических параметров, описание проб, отбор проб для лабораторных исследований, проведение радиоизотопных и аппликационных экспериментов, фотографирование местности, водоема, микробного мата, донных осадков, места и процесса отбора проб.

Для выбора доступного и удобного места проведения исследования необходимо провести предварительный осмотр местности и водоема. Подход к месту проведения исследования должен быть безопасным и удобным. Место отбора проб зависит от задачи исследования и типа водоема. В озерах исследования проводятся в прибрежной (литораль) и глубоководной (профундаль) зонах, в местах развития микробных матов и в разных типах донных отложений, в источниках – на выходе и по ручью в местах развития микробных матов с учетом изменений физико-химических и гидрологических параметров, в реках – в прибрежной части и в створе русла на разных геоморфологических участках.

2.1. Описание места отбора проб

При помощи прибора определения местоположения (GPS) определяют географические координаты места отбора проб, высоту над уровнем моря. При определении глубины, длины и ширины водоема используют в зависимости от природных показателей градуированную линейку, шест, веревку, трос или эхолот. Дебит источника определяют по скорости заполнения калиброванной посуды.

В маркировке проб должны быть отражены: название водоема, дата отбора, место и горизонт отбора. Для маркировки проб

желательно использование единого подхода: первые две-три буквы обозначают название водоема – затем указывается год (две последние цифры) – номер станции – горизонт. Например: Га-03-1-0, Гарга – 2003 - станция 1 -горизонт 0.

Заполняют полевой дневник с описанием водоема и маркировку проб.

2.2. Описание воды, осадков, микробных матов, минеральных отложений, льда и почвы

Цвет воды определяется визуально. При описании донных осадков отмечают тип, цвет, консистенцию, толщину слоя, наличие включений и длину зерна, отмечая особенности осадков (табл. 6). При описании микробных матов отмечают цвет, консистенцию, наличие включений, толщину и площадь. При описании почвенных образцов отмечают тип, цвет, консистенцию, толщину слоя, наличие включений и длину зерна.

2.3. Описание водоема

Распространение и активность микроорганизмов зависит от геологических и физико-химических параметров окружающей среды. Поэтому при описании водоема необходимо дать геоморфологические особенности местности, водосборной территории, водотоков, коренных пород, почвы, донных отложений.

Качественные фотоснимки местности, водоема, места отбора проб, микробных матов, осадков, солей, почв, растений, животных и процесса отбора проб необходимы для описания, анализа и оформления публикаций.

Для полноты описания водоема желателен сбор у местных жителей информационного материала. К ним относятся легенды, песни, рассказы, статьи, примеры использования источников и озер для лечения и отдыха, получения органических и минеральных веществ.

Таблица 6

Описание проб

Проба	Цвет	Включения	Тип
Вода	Голубой, белый, зеленый, коричневый и др.	Макрофиты, животные, газы	Минеральная, речная, озерная, болотная
Почва	Серый, зеленый, коричневый, черный	Минералы, газы, остатки растений, животные	Глинистые, суглинистые, супесчаные, песчаные, каменистые
Минеральные отложения	Белый, желтый, черный, бурый и др.	Минералы, соли	Охра, травертины, соли (пласт, новосадка, друзы)
Донные осадки	Серый, зеленый, белый, черный, коричневый	Минералы, газы, остатки растений, макрофиты, животные	Пелит или глина (зерна меньше 0,01 мм) алеврит или ил (зерна 0,01 - 0,1 мм) песок (зерна 0,1 – 1 мм) гравий (зерна 1 - 10 мм) галька (зерна 10 – 100 мм) валуны (зерна свыше 100 мм)
Микробный мат	Зеленый, белый, черный, коричневый, пурпурный и др.	Минералы, газы, остатки растений, животные	Циано-бактериальный, серный, диатомовый, пурпурный, зеленый
Лед	Белый, темно-серый	Минералы, газы, остатки растений, животные	Озерный, речной, болотный

3. Определение физико-химических показателей

При проведении гидрохимических работ рекомендуется придерживаться определенной последовательности. При взятии проб с поверхности:

- 1) определяют прозрачность и цвет воды;
- 2) определяют температуру воды;
- 3) отбирают пробу воды объемом примерно 5 л, используя батометр или калиброванную посуду, предварительно ополоснув несколько раз водой с глубины 0,2-0,5 м;
- 4) определяют pH, содержание CO_2 , гидрокарбонатных и карбонатных ионов (HCO_3^- и CO_3^{2-}), фиксируют кислород;
- 5) наполняют водой емкости в соответствии с программой наблюдений. Пробы для определения нефтепродуктов, пестицидов, СПАВ, тяжелых металлов и других ингредиентов отбирают в отдельные склянки;
- 6) отобранные пробы консервируют для определения главных ионов и биогенных элементов, делают отметку, чем законсервирована проба;
- 7) определяют вкус и запах воды;
- 8) все результаты определений записывают в полевой дневник.

Необходимо помнить, что структура и функционирование микробного сообщества водоемов во многом зависит от физико-химических условий среды. Определение физико-химических показателей среды является важнейшей частью микробиологических исследований.

3.1. Определение прозрачности и освещенности водоема

Прозрачность водоема определяется при помощи диска Секки или белого круга из фарфора, пластмассы (Ø 15-20 см). На веревке опускают диск в воду и отмечают момент исчезновения диска. По длине веревки определяют глубину проникновения солнечного света. Значение освещенности определяют при помощи люксометра.

3.2. Определение температуры

Температуру определяют при помощи ртутного или спиртового стеклянного термометра или электронного сенсорного термометра. Калибровку прибора проводят по температуре воды со льдом (0°C) и кипящей воды (100°C, 1 атм). Определение температуры в поверхностных слоях водоема проводят непосредственно на месте, в пробах из толщи воды - сразу после отбора.

3.3. Определение рН

При определении используют полевой прецизионный рН - метр или индикаторную бумагу. В некоторых случаях определение рН проводят при помощи колориметрического метода с использованием готовых кислотно-основных индикаторов, меняющих цвет при определенных значениях рН (приложение 6). Для калибровки рН - метра и индикаторов используют готовые буферные растворы со значениями рН 4, 7, 9. После определения обязательно промывают электроды дистиллированной водой.

3.4. Определение минерализации

Используют полевой прецизионный кондуктометр. Калибровку проводят с использованием раствора NaCl различной концентрации. При высокой минерализации воду разбавляют дистиллированной водой и определяют значение минерализации. Затем по графику зависимости показаний прибора и концентрации NaCl записывают значение минерализации с учетом разбавления. После определения обязательно промывают электроды дистиллированной водой.

3.5. Определение окислительно-восстановительного потенциала (ОВП)

ОВП (или Eh) определяют при помощи полевого прецизионного определителя редокс-потенциала. Определение ОВП проводится в пробах воды, осадков и матов сразу после отбора или *in situ*. К показанию прибора прибавляется +200 мВ

(потенциал электрода сравнения относительно водородного) и результат записывается как значение ОВП (Eh) в мВ. После определения обязательно промывают электроды дистиллированной водой.

Для калибровки электродов готовят раствор Зобелла: 0,003М $K_3Fe(CN)_6$ и 0,003 М $K_4Fe(CN)_6$ в 0,1М KCl. Этот стандартный раствор при 25°C показывает значение ОВП (Eh) = 430 мВ.

3.6. Определение щелочности

Под щелочностью подразумевают способность воды реагировать с кислотами. Метод определения основан на титровании раствором соляной кислоты в присутствии индикатора метилового оранжевого.

Реактивы:

- 0,1 N раствор HCl;
- 0,02-0,05%-ный раствор метилового оранжевого.

Ход анализа:

К 100 мл пробы прибавляют 2-3 капли метилоранжа и титруют 0,1 N раствором HCl до слабо-оранжевого цвета. Общую щелочность определяют по формуле:

$$M = v \cdot N \cdot 1000/V, \text{ где}$$

M - щелочность воды, мг-экв/л;

v - объем кислоты, израсходованный на титрование, мл;

N - нормальность HCl;

V - объем пробы, мл.

3.7. Определение свободной окиси углерода (углекислоты)

Объемный метод определения свободной углекислоты основан на том, что прибавляемая к воде щелочь количественно связывает свободную углекислоту.

Реактивы:

- 0,02 N раствор NaOH или Na_2CO_3 ;
- 0,5%-ный раствор фенолфталеина. 0,5 г фенолфталеина растворяют в 50 мл этанола и разбавляют 50 мл дистиллированной воды;
- 50%-ный раствор сегнетовой соли $KNaC_4H_4O_6$.

Ход анализа:

Пипеткой с сифоном набрать 100 мл воды. прибавить 0,2 мл (4 капли) фенолфталеина. Закрывать пробкой и перемешать. Если проба сразу окрасится в розовый цвет - CO_2 нет. Если розового окрашивания нет, то титруют 0,002 N NaOH или Na_2CO_3 до установления розовой окраски, устойчивой в течение 5 мин. Если при титровании образуется муть, значит большая жесткость или значительное содержание железа, то нужно предварительно добавить в колбу 1 мл 50%-ной сегнетовой соли ($\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6$).

Количество свободной углекислоты определяют по формуле:

$$C = v \cdot N \cdot E \cdot 1000 / V, \text{ где}$$

C - количество свободной углекислоты, мг/л;

v - объем раствора щелочи, израсходованного на титрование, мл;

N - нормальность раствора NaOH или Na_2CO_3 ;

E - эквивалент свободной углекислоты, 44;

V - объем пробы, мл.

3.8. Определение в воде количества карбонатов и гидрокарбонатов

Определение количества углерода карбонатов ($C_{\text{карб.}}$) и гидрокарбонатов ($C_{\text{гидрокарб.}}$) прямым титрованием.

Реактивы:

- 0,1 N раствор HCl;
- 0,5%-ный раствор фенолфталеина. 0,5 г фенолфталеина растворяют в 50 мл этанола и разбавляют 50 мл дистиллированной воды;
- метиловый оранжевый, 0,05% - ный водный раствор.

Ход анализа:

Пробу воды (100 мл) наливают в коническую колбу, добавляют 2-3 капли фенолфталеина. При появлении розовой окраски титруют 0,1N HCl до слабо-розовой, почти бесцветной окраски. Объем израсходованной кислоты v_1 . Затем к той же пробе добавляют 2-3 капли метилового оранжевого и титруют до слабо-оранжевого цвета. Объем израсходованной кислоты v_2 . Если карбонаты отсутствуют, то определяют сразу гидрокарбонаты, для чего исследуемую воду титруют в присутствии метилового оранжевого.

Таким образом, количество карбонатов и гидрокарбонатов в 1 л воды можно рассчитать по следующим формулам (мг/л):

$$C_{\text{карб}} = 2 \cdot v_1 \cdot N \cdot E_1 \cdot 1000/V,$$

$$C_{\text{гидрокарб}} = (v_2 - v_1) \cdot N \cdot E_2 \cdot 1000/V, \text{ где}$$

$C_{\text{карб}}$ - количество карбонатов, мг/л;

$C_{\text{гидрокарб}}$ - количество гидрокарбонатов, мг/л;

v_1 - объем раствора HCl, израсходованного при титровании в присутствии фенолфталеина, мл;

v_2 - объем раствора HCl, израсходованного при титровании в присутствии метилового оранжевого, мл;

N - нормальность HCl;

E_1 - эквивалент карбоната, равный 30;

E_2 - эквивалент гидрокарбоната, равный 61;

V - объем пробы, мл.

3.9. Определение общей жесткости воды

Общая жесткость воды определяется содержанием двухвалентных катионов, главным образом кальция и магния. Карбонатная жесткость обусловлена наличием бикарбонатов и карбонатов кальция и магния. Вода с общей жесткостью до 3,5 мг-экв/л относится к мягкой, от 3,5 до 7 мг-экв/л - к воде средней жесткости, от 7 до 10 мг-экв/л - к жесткой. Определению общей жесткости мешают ионы железа, марганца, меди, цинка.

Реактивы:

- аммиачный буферный раствор ($\text{NH}_4\text{OH} + \text{NH}_4\text{Cl}$). 10 г NH_4Cl растворяют в дистиллированной воде, добавляют 50 мл 25% раствора аммиака и доводят до 500 мл дистиллированной водой.

- индикатор эриохром черный Т сухой. 0,25 г смешивают с 50 г NaCl.

- трилон Б (этилендиаминтетраацетат натрия) 0,1 N или 0,05 N. Готовят из фиксанала.

Ход анализа:

100 мл пробы набирают в коническую колбу, добавляют аммиачный буферный раствор и индикатор, титруют раствором трилона Б до изменения окраски. При жесткости воды выше 20 мг-экв/л титрование следует проводить 0,1 N раствором трилона Б; при жесткости ниже 20 мг-экв/л - 0,05 N раствором. Объем

исследуемой воды берут с таким расчетом, чтобы содержание в нем ионов кальция и магния не превышало 0,5 мг-экв/л в 100 мл.

Вычисление общей жесткости производят по формуле (мг-экв/л):

$$H = A \cdot N \cdot 1000 / V, \text{ где}$$

H - общая жесткость, мг-экв/л;

A - количество трилона Б, израсходованного на титрование, мл;

N - нормальность трилона Б;

V - объем пробы, мл.

3.10. Определение растворённого в воде кислорода по методу Винклера

Сущность метода заключается в том, что гидрат закиси марганца в щелочном растворе окисляется за счет растворенного кислорода с образованием гидрата окиси марганца.

Реактивы:

- раствор хлористого или сернокислого марганца. 42,5 г $MnCl_2 \cdot 4 H_2O$ или 48 г $MnSO_4 \cdot 4 H_2O$ растворить в 100 мл дистиллированной воды.
- щелочной раствор йодистого калия. 75 г КОН или 50 г NaOH и 15 г KI растворить в 100 мл дистиллированной воды. Щелочи не должны содержать примеси нитратов, выделяющих йод из йодистого калия при подкислении.
- 0,02 N раствор тиосульфата натрия. Готовят разбавлением 0,2 N раствора $Na_2S_2O_3$;
- кислота соляная концентрированная или кислота серная (1:1);
- 0,5%-ный раствор крахмала. 0,5 г растворимого крахмала размешать в небольшом количестве холодной воды, влить приготовленный раствор в 100 мл кипящей воды, кипятить в течение 1-2 мин, охладить.

Ход анализа:

1. Водой из водоема наполняют кислородные склянки, при этом сливную трубку или сифон опускают до дна склянки. Воду переливают через горлышко склянки, чтобы через воду не проскакивали пузырьки воздуха. Склянки для анализа берут одного объема - 65 или 150 мл.

2. После заполнения склянки водой в нее сразу же вносят 0,5

мл раствора сернокислого марганца и 0,5 мл раствора йодистого калия из расчета на 100 мл воды. Слянку закрывают притертой пробкой так, чтобы не осталось пузырьков воздуха, и содержимое склянки тщательно взбалтывают. Дают осадку осесть примерно в течение 30 мин.

3. Затем добавляют 0,5 мл кислоты, закрывают склянку пробкой и тщательно взбалтывают так, чтобы осадок полностью растворился. Из склянки отбирают 50 мл жидкости, вносят в коническую колбу и титруют тиосульфатом до бледно-желтого цвета, после чего вносят несколько капель крахмала и титруют до обесцвечивания.

4. Расчет количества растворенного в воде кислорода определяют по формуле:

$$C_{\text{кисл}} = M \cdot 8 \cdot 1000 / V, \text{ где}$$

$C_{\text{кисл}}$ - количество растворенного кислорода, мг/л;

M - количество тиосульфата, пошедшего на титрование 50 мл пробы, мл;

8 - эквивалент кислорода;

N - нормальность тиосульфата (около 0,02);

1000 - коэффициент для пересчета результатов на 1 л;

V - количество раствора, взятого для титрования, мл.

3.11. Определение биологического потребления кислорода (БПК)

Пробу воды набирают в три кислородные склянки с притертой пробкой. В одной сразу определяют содержание растворенного кислорода по методу Винклера. Две склянки инкубируют в месте отбора или в термостате в лаборатории. Через 5 суток в них определяют концентрацию растворенного кислорода по методу Винклера. Разность между начальной и конечной концентрацией кислорода дает величину биохимического потребления кислорода.

3.12. Определение хлоридов

Аргентометрический метод основан на титриметрическом осаждении хлоридов азотнокислым серебром в присутствии хромата калия K_2CrO_4 в качестве индикатора. После осаждения хлорид-ионов хромат калия зеленовато-желтого цвета образует с

избытком AgNO_3 осадок Ag_2CrO_4 красно-бурого цвета. Определение хлоридов должно проводиться при рН 6,5 -10.

Реактивы:

- 5%-ный раствор хромата калия. 50 г K_2CrO_4 растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, прибавляют раствор нитрата серебра до появления красного осадка, через день фильтруют через бумажный фильтр и разводят водой до 1 л.

- 0,1 N раствор хлорида натрия, готовят из фиксаля;

- 0,05 N раствор нитрата серебра. 8,5 г AgNO_3 растворяют в 1 л дистиллированной воды. Растворы AgNO_3 должны храниться в темной склянке. Для определения поправочного коэффициента к раствору AgNO_3 в конической колбе к 10 мл 0,1 N раствора NaCl прибавляют 90 мл дистиллированной воды, прибавляют 1 мл раствора K_2CrO_4 и титруют приготовленным раствором AgNO_3 до перехода лимонно-желтой окраски в оранжево-красную. Поправочный коэффициент К вычисляют по формуле:

$$K = a/n, \text{ где}$$

а - количество 0,1 N раствора NaCl , применявшееся для определения нормальности раствора AgNO_3 , мл;

п - количество 0,05 N раствора AgNO_3 , затраченное на титрование, мл.

Ход анализа:

При содержании хлоридов менее 250 мг/л для анализа берут 100 мл воды, при большей концентрации – 10-50 мл. Пробу наливают в две конические колбы, доводят до 100 мл дистиллированной водой, прибавляют 5 капель раствора K_2CrO_4 . Раствор в одной колбе титруют AgNO_3 до появления слабо-оранжевого цвета, вторая колба служит контролем.

Концентрацию хлоридов определяют по формуле:

$$X = A \cdot K \cdot N \cdot E \cdot 1000 / V, \text{ где}$$

X - концентрация хлоридов, мг/л;

A - количество AgNO_3 , использованного на титрование, мл;

K - поправочный коэффициент;

N - нормальность раствора AgNO_3 ;

E - эквивалент хлора, равный 35,5;

V - объем исследуемой пробы, мл.

3.13. Определение сульфатов

Турбидиметрический метод основан на определении сульфата бария в кислой среде с помощью гликолевого реагента.

Реактивы:

- гликолевый реагент. Реактив А. Для приготовления смешивают один объем 5% водного раствора хлорида бария с тремя объемами этиленгликоля и тремя объемами 96% этанола. рН устанавливают соляной кислотой (1:1) в пределах 2,5-2,8 и оставляют раствор на 2 суток. Раствор устойчив в течение 3-6 месяцев. Реактив Б. Готовится так же, как и реактив А, но вместо раствора хлорида бария добавляют дистиллированную воду;

- 5% раствор хлорида бария. 5,8 г $BaCl_2 \cdot 2 H_2O$ растворяют в дистиллированной воде и доводят до 100 мл. Фильтруют через беззольный фильтр «синяя лента»;

- соляная кислота, раствор (1:1);

- сульфат калия. Основной стандартный раствор. 0,907 г безводного K_2SO_4 растворяют в дистиллированной воде и доводят до 1 л. 1 мл раствора содержит 0,5 мг сульфатов.

Ход анализа:

К 5 мл исследуемой воды (оптимальная концентрация 2-25 мг/л сульфатов) прибавляют 1-2 капли раствора соляной кислоты и 5 мл гликолевого реагента (реактив А), перемешивают. Через 30 мин фотометрируют в кюветах с толщиной оптического слоя 2 см при длине волны 364 нм по отношению к исследуемой воде с добавлением гликолевого реагента без хлорида бария (реактив Б). Содержание сульфатов определяют по калибровочному графику или визуально по сравнению интенсивности помутнения пробы со шкалой стандартных растворов. Пробирки просматривают сверху на черном матовом фоне.

3.14. Определение сероводорода и сульфидов

Фотометрический метод основан на реакции сероводорода и сульфид-ионов с N,N'-диметил-*para*-фенилендиамином (ДМП) в кислой среде. Определение проводят в отдельной пробе, которую фиксируют на месте отбора, наливая в раствор ацетат цинка или кадмия. Без разбавления можно определить сероводород и сульфиды в концентрациях от 0,005 до 1,0 мг/л.

Реактивы:

- ДМП (дифенил-*пара*-фенилендиамин), 0,2%-ный раствор в 20% H_2SO_4 ;
- $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$ (квасцы), 10% раствор в 2% H_2SO_4 ;
- ацетат кадмия или цинка, 2%-ный раствор. Если раствор получится мутным, прибавляют несколько капель 1 N раствора уксусной кислоты;
- стандартный раствор сульфида натрия. Основной раствор. Обмытый водой кристаллик сульфида натрия (около 150 мг $\text{Na}_2\text{S}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$, что соответствует примерно 20 мг H_2S) растворяют в 500 мл прокипяченной дистиллированной воды. Раствор малоустойчив.

Ход анализа:

К 1 мл пробы добавляют 4 мл раствора ацетата Cd, отбирают для определения 100 мкл полученного раствора. Доводят дистиллированной водой до 5 мл. В раствор вносят 1 мл ДМП и 50 мкл квасцов, перемешивают. Через 10 мин доводят общий объем до 10 мл дистиллированной водой. Измеряют на фотоколориметре оптическую плотность при длине волны 670 нм в кюветках с толщиной 1 см по отношению к дистиллированной воде с добавлением реактивов. Содержание сульфидов определяют по калибровочному графику.

3.15. Определение фосфатов

Определение фосфатов основано на образовании фосфорно-молибденовой кислоты $\text{H}_7[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6]\cdot 28\text{H}_2\text{O}$, которая восстанавливается аскорбиновой кислотой до фосфорно-молибденового комплекса, окрашенного в голубой цвет.

Реактивы:

- $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, 2,5%-ный раствор в 1 N H_2SO_4 ;
- 1%-ный раствор аскорбиновой кислоты;
- 2 N соляная кислота.

Ход анализа:

К 0,5 мл пробы добавляют 0,5 мл бидистиллированной воды. Затем добавляют 1 мл 2 N HCl , 0,4 мл раствора $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, 0,1 мл аскорбиновой кислоты. Перемешивают и выдерживают в течение 5 мин при 37°C. Охлаждают в воде с льдом и фотоколориметрируют

при длине волны 750 нм. Содержание фосфатов определяют по калибровочному графику.

3.16. Определение аммиака и ионов аммония

Фотокolorиметрический метод основан на способности аммиака образовывать с щелочным раствором йодида ртути (I) (реактив Несслера) окрашенные в желтый цвет соединения йодида ртути аммония.

Реактивы:

- безаммиачная вода. Приготавливается для приготовления реактивов и разбавления пробы. Устраняют следы аммиака фильтрованием дистиллированной воды через катионит в H^+ форме или активированный уголь;
- реактив Несслера;
- калия-натрия тартрат (сегнетова соль), 50% раствор. Растворяют 50 г $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ в 100 мл безаммиачной воды при нагревании и фильтруют. Прибавляют 6 мл реактива Несслера;
- гидроксид алюминия;
- фосфатный буфер с $\text{pH}=7,4$;
- стандартный раствор хлорида аммония. Основной раствор - 3,818 г NH_4Cl растворяют в 1 л безаммиачной воды. В 1 мл раствора содержится 1 мг N.

Ход анализа:

К 100 мл пробы (концентрация до 0,07 мг N) приливают 2 мл раствора К-Na тартрата, 2 мл реактива Несслера, перемешивают. Через 10 мин фотокolorиметрируют в кюветах с толщиной оптического слоя 2 или 5 см с фиолетовым светофильтром при длине волны 425 нм. Контроль - безаммиачная вода с добавлением соответствующих реактивов.

3.17. Определение нитратов

Фотометрический метод основан на реакции нитрат-ионов с салицилатом натрия в среде концентрированной серной кислоты с образованием. В результате реакции образуется смесь 3-нитросалициловой и 5-нитросалициловой кислот, соли которых в щелочной среде имеют желтую окраску. Можно определить NO_3^- в концентрациях от 0,1 до 20,0 мг/л.

Реактивы:

- салицилат натрия, 0,5%-ный раствор (всегда свежеприготовленный). Растворяют 0,5 г соли в 100 мл дистиллированной воды;

- серная кислота. Плотность 1,84 г/см³, не должна содержать нитратов;

- раствор едкого натра и сегнетовой соли. Растворяют 400 г едкого натра и 60 г сегнетовой соли в дистиллированной воде и после охлаждения разбавляют до 1 л.

- стандартный раствор нитрата калия. Основной раствор = растворяют 0,1631 г KNO₃ в дистиллированной воде, прибавляют 1 мл хлороформа и разбавляют водой до 1 л; в 1 мл этого раствора содержится 100 мкг NO₃⁻;

- гидроксид алюминия, суспензия. Растворяют 125 г алюмокалиевых или алюмоаммониевых квасцов в 1 л, нагревают раствор до 60°C и медленно при непрерывном перемешивании прибавляют 55 мл концентрированного раствора аммиака. Через 1 ч смесь переносят в большую бутылку (8 л) и промывают осадок гидроксида алюминия многократной декантацией дистиллированной водой до удаления хлоридов, нитритов, нитратов и аммиака.

Ход анализа:

К 20 мл пробы (если проба окрашена органическими веществами отбирают 150 мл пробы, прибавляют 3 мл суспензии гидроксида алюминия, фильтруют и отбирают 20 мл фильтрата, отбрасывая первые порции) прибавляют 2 мл раствора салицилата натрия и выпаривают в форфоровой чашке досуха. Сухой остаток смачивают 2 мл серной кислоты и через 10 мин смесь разбавляют 15 мл дистиллированной воды, приливают 15 мл едкого натра и сегнетовой соли, количественно переносят в мерную колбу на 50 мл, доводят дистиллированной водой до метки. Полученный окрашенный раствор фотометрируют при длине волны 410 нм в кюветах с толщиной слоя 5 см (в течение 10 мин окраска устойчивая). В качестве контроля используется дистиллированная вода, подвергнутая такой же обработке. Содержание нитратов определяют по калибровочному графику.

3.18. Определение нитритов

Метод основан на способности первичных ароматических аминов в присутствии азотистой кислоты давать интенсивно окрашенные в розовый цвет азосоединения. Определение содержания NO_2^- проводить не позже чем через 2-3 суток после взятия пробы воды.

Реактивы:

- реактив Грисса: из готового реактива Грисса готовят 10%-ный раствор.

Или готовят следующим образом:

- 0,2 г альфа-нафтиламина растворяют в 150 мл 12%-ной уксусной кислоты;

- 0,5 г сульфаниловой кислоты растворяют в 150 мл 12%-ной уксусной кислоты. Хранят растворы в темных склянках и смешивают оба раствора в равных объемах;

- уксусная кислота, 12%-ная: 25 мл ледяной уксусной кислоты разбавляют дистиллированной водой до 200 мл.

Ход анализа:

К 100 мл пробы приливают 5 мл раствора Грисса и перемешивают. Через 40 мин растворы фотометрируют в кювете на 5 см с зеленым светофильтром при длине волны 530 нм. Содержание нитрит-ионов находят по калибровочной кривой.

3.19. Определение железа

Метод основан на взаимодействии сульфосалициловой кислоты с ионами железа в щелочной среде ($\text{pH} = 8-11,5$) с образованием окрашенного в желтый цвет комплексного соединения.

Реактивы:

- 10%-ный раствор сульфосалициловой кислоты;

- 10%-ный раствор аммиака. 40 мл 25%-ного раствора NH_4OH разбавляют водой до 100 мл;

- серная кислота, плотность $1,84 \text{ г/см}^3$;

- стандартный раствор Fe^{3+} . Основной раствор: 0,8634 г железомонийных квасцов $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ растворяют в дистиллированной воде, прибавляют 10 мл H_2SO_4 и доводят объем раствора до 1 л. 1 мл такого раствора содержит 0,1 мг Fe^{3+} .

Ход анализа:

К 10 мл пробы прибавляют 5 мл раствора сульфосалициловой кислоты и 5 мл раствора NH_4OH . Перемешивают и через 10 мин измеряют оптическую плотность на фотоколориметре при длине волны 420 нм в кюветах толщиной 2- 5 см по отношению к дистиллированной воде, в которую добавлены те же реактивы. Содержание общего железа определяют по калибровочному графику.

3.20. Определение кремнекислоты

Метод основан на способности соединений кремния образовывать с молибдатами в присутствии минеральной кислоты окрашенные в желтый цвет комплексное соединение $\text{H}_8\text{Si}_2(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6$.

Реактивы:

- соляная кислота, раствор. 42 мл концентрированной HCl разбавляют дистиллированной водой до 100 мл;

- молибдат аммония, раствор. 8,3 г химически чистого $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ растворяют в дистиллированной воде и доводят до 100 мл. Хранят в течение 10 суток.

Ход анализа:

50 мл пробы помещают в колбу на 100 мл, приливают 2 мл раствора HCl и 3 мл раствора молибдата и выдерживают 15 мин. Затем фотометрируют с синим светофильтром в кювете с толщиной оптического слоя 5 см в течение 40 мин относительно дистиллированной воды. Содержание кремния определяют по калибровочному графику.

4. Отбор проб для полевых исследований

Дискретная проба должна отражать качество исследуемой воды, донных осадков, почвы и матов (табл. 7). Для отбора проб воды используют батометры, бутылки, флаконы, шприцы и т.д. Для отбора проб донных осадков и почв в зависимости от условий применяют бур, стратометр, геологическую трубку, рейфер, дночерпатель, ковш, ложку, нож и т.д. Для отбора микробных матов и растительного опада используют пинцет, скальпель, нож, трубку, ковш, ложку и т.д. Горизонты отбора проб воды, осадков, почвы и матов определяются конкретными задачами исследования.

Выбор места отбора проб

Водоем	Места отбора и проведения исследований
Источник	Выход, по ручью в разных типах осадков и местах развития микробного мата
Мелководное озеро, глубина 0,2 – 1 м	Вода (горизонты 0, 5, 10, 50, 80 см, придонный слой), термоклин Донные осадки, микробные маты
Мелководное озеро, глубина 1 – 5 м	Вода (горизонты: 0, 10, 50, далее через 50 см, придонный слой), термоклин Донные осадки, микробные маты
Глубоководное озеро, глубина 5-100 м	Вода (горизонты: 0, 1, 5, далее через 5 - 10 м, придонный слой) Донные осадки, микробные маты
Болото	Вода (горизонты: 0, 5, 10, 50 см, придонный слой) Донные осадки, микробные маты
Река	Вода (горизонты: 0, 1, 5, далее через 5 м, придонный слой) Донные осадки, микробные маты

Пробы должны быть сразу же подписаны по единой схеме нумерации. Для этого используют несмываемые водой маркеры и карандаши. Все пакеты, флаконы и бутылки должны иметь этикетки с обозначениями.

При изучении донных отложений нужно постараться отобрать керн с ненарушенной структурой, включая поверхностный слой и наилок. В мелководных водоемах наилок собирают отдельно. Затем намечают слои керна для последующего их отбора и изучения в зависимости от структуры и цвета осадка. Для микробиологического и радиоизотопного анализов обязательно отбираются поверхностный (0-1 см) и подповерхностный (от 1 до 5 см) слои и далее через 1 см (если колонка пробы 10-15) или 10-50 см до 1 м (если колонка 1 м и более).

Пробы микробных матов для радиоизотопных анализов отбирают пробочным сверлом с определенной площадью, для микробиологических и химических анализов отбирают ненарушенные куски матов шпателем, пинцетом или другими

инструментами. Кроме того, для радиоизотопных и микробиологических анализов маты желательно разбирать послонно в зависимости от структуры и цвета мата.

Пробы воды для радиоизотопного анализа набирают в пенициллиновые флаконы объемом 10-25 мл или стеклянные флаконы объемом 50-100 мл до верху, пропуская 2-3 объема водной пробы. Пробы микробных матов с определенной площади, отобранную сверлом, или объемом 1-2 мл, отобранную шприцом без наконечника, вносят в пенициллиновый флакон объемом 10-25 мл и доливают полностью водой из этого же водоема. Пенициллиновые флаконы закрывают резиновой пробкой, которую закрепляют алюминиевым колпачком. При определении скорости микробных процессов в поверхностных слоях донных отложений во флакон отбирают пробу объемом 1-2 мл и доливают полностью водой из водоема. Пробы донных осадков из нижних слоев набирают в шприц с резиновым поршнем без наконечника и закрывают резиновой пробкой, которую закрепляют скотчем или лейкопластырем.

5. Определение скорости микробных процессов

Одной из основных задач экологической микробиологии является изучение функциональной активности микробного сообщества, определение скорости микробных процессов круговорота углерода, азота, серы и других биогенных элементов. В табл. 8 приведены различные методы определения скорости микробных процессов.

5.1. Определение скорости фотосинтеза

Кислородный метод Винберга

В склянки объемом 50-200 мл набирают воду доверху и плотно закрывают притертой пробкой. В контрольных склянках сразу определяют содержание растворенного кислорода. Опытные склянки устанавливают на горизонтах воды, откуда были отобраны пробы, привязав к тросу, инкубируют 1-10 суток. После инкубации в опытных склянках также определяют содержание кислорода. По

выделению свободного кислорода можно определить количество образовавшегося органического вещества. Определяют скорость фотосинтеза согласно соотношениям, представленным табл. 9

Таблица 8

Методы определения скорости микробных процессов

Процесс	Методы определения
Оксигенный фотосинтез	Радиоизотопный, кислородный метод Винберга
Аноксигенный фотосинтез	Радиоизотопный, ингибиторный, кислородный метод Винберга
Темновая фиксация CO ₂	Радиоизотопный, титриметрический
Аэробная деструкция	Кислородный метод Винберга
Анаэробная деструкция	Титриметрический
Разложение белка	Радиоизотопный, аппликационный
Разложение целлюлозы	Радиоизотопный, аппликационный
Потребление глюкозы	Радиоизотопный
Сульфатредукция	Радиоизотопный, титриметрический
Метаногенез	Радиоизотопный, газохроматографический
Окисление метана	Радиоизотопный, газохроматографический
Нитрификация	Радиоизотопный, газохроматографический
Ацетогенез	Радиоизотопный
Денитрификация	Ингибиторный, газохроматографический
Азотфиксация	Ингибиторный, газохроматографический
Разложение растительных остатков	Весовой

Таблица 9

Соотношение между величинами O_2 и CO_2 в процессе фотосинтеза и деструкции

Исходные	O_2		CO_2		С, мг
	мг	мл	мг	мл	
1 мг O_2	-	0,6997	1,375**	0,6997**	0,3750**
1 мл O_2	1,4292	-	1,9652**	1,0000*	0,5359**
1 мл CO_2	0,7273*	0,5089	-	0,5089	0,2727
1 мг CO_2	1,4292*	1,0000*	1,9652	-	0,5359
1 мг С	2,6667*	1,8660*	3,6667	1,8660	-

Примечание. Значения даны для АК (ассимиляционный коэффициент) и ДК (дыхательный коэффициент), равных 1. Если ДК и АК не равны 1 (в природных условиях наиболее вероятные значения АК=1,25 и ДК=0,8), то величину со значком* следует умножить на АК или разделить на ДК, а величину со значком** — разделить на АК или умножить на ДК.

Расчет первичной продукции можно производить также расчетным методом с использованием следующих формул.

1. Валовая продукция P_g , O_2 мг/л·ч: $P_g = (V_C - V_T)/t$

2. Чистая продукция P_N , O_2 мг/л·ч: $P_N = (V_C - V_T^H)/t$

3. Деструкция D, O_2 мг/л·ч: $D = (V_C - V_T)/t$, где

V_T^H - начальное содержание O_2 в склянке перед экспонированием, мг/л;

V_C - содержание O_2 в светлой склянке после экспонирования, мг/л;

V_T - содержание O_2 в темной склянке после экспонирования, мг/л;

t - время экспонирования склянок, ч.

Путем пересчета с использованием табл. 9 величины продукции и деструкции можно выразить в единицах: мг/(м³ · сут), мг/(м³ · ч) в расчете на кислород, С_{орг} и т.д.

Потребление кислорода на деструктивные процессы

рассчитывается по формуле:

$$Q_d = (Q_{\text{исх}} - Q_{\text{кон}}) \cdot 24 / t, \text{ где}$$

Q_d - величина деструкции $C_{\text{орг}}$, мг O_2 / (л·сут);

$Q_{\text{исх}}$ - содержание кислорода в исходной воде, мг/л;

$Q_{\text{кон}}$ - содержание кислорода в конце инкубации, мг/л;

t - время инкубации, ч.

Для выражения величины деструкции в пересчёте на органическое вещество или на углерод Q_d умножают на дыхательный коэффициент, равный 0,8, пересчёт делают, используя табл. 9.

Радиоизотопный метод

Для определения скорости общего фотосинтеза вводят в пенициллиновый флакон с пробой воды, осадка или мата 0,1 мл раствора ^{14}C -бикарбонат натрия с активностью 0,5-5 мКи. Для определения скорости аноксигенного фотосинтеза в пробу перед введением раствора радиоизотопа предварительно добавляют 0,1 мл рабочего раствора диурона на 10 мл и выдерживают 10-15 мин для ингибирования оксигенного фотосинтеза. Инкубацию от 2 до 12 ч проводят на месте отбора проб. Затем фиксируют 0,2 мл 40% формалина. Дальнейшую обработку проб проводят в лаборатории, где определяют радиоактивность биомассы и экзометаболитов. Водные пробы фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,20 мкм. Фильтры высушивают и кладут на фильтровальную бумагу смоченную 1-3% раствором HCl для удаления остаточного ^{14}C бикарбоната натрия и оставить на 10-12 ч. Высушенные фильтры помещают в сцинтилляционные флаконы, заливают сцинтилляционной жидкостью ЖС-106 или сцинтилляционной смесью следующего состава: толуол : метанол - 85 : 25, 2,5-дифенилоксазол (ППО) - 6 г/л, 1,4-бис-2-(5-фенилоксазол) бензол (ПОПОП) - 100 мг/л. Радиоактивность определяют на сцинтилляционном β -счетчике. Пробы донных осадков и матов диспергируют на ультразвуковом диспергаторе или дезинтеграторе.

5.2. Определение скорости хемосинтеза

Радиоизотопный метод

В пробу вводят 0,1 мл рабочего раствора азиды натрия на 15-20 мл пробы для ингибирования автотрофной фиксации углекислоты. Затем вводят 0,1 мл раствора ^{14}C -бикарбоната натрия. Инкубацию от 2 до 72 ч проводят в водоеме в месте отбора проб. Затем фиксируют 0,2 мл 40% формалина. Обработку пробы проводят в лаборатории, где определяют радиоактивность биомассы и экзометаболитов. По разнице между общей темновой и автотрофной фиксацией радиомеченого бикарбоната определяют скорость хемосинтеза.

5.3. Определение скорости темновой фиксации CO_2

Титриметрический метод

В склянки объемом 50-200 мл набирают воду доверху, плотно закрывают притертой пробкой и помещают в темный мешок. Параллельно в этой же воде сразу определяют содержание углекислоты. Флаконы с водой устанавливают на горизонтах отбора проб и, привязав к тросу, инкубируют 1-10 суток. Затем в опытных флаконах определяют содержание углекислоты. По формуле (табл. 9) определяют скорость темновой фиксации углекислоты.

Радиоизотопный метод

0,1 мл раствора ^{14}C -бикарбонат натрия вводят в пенициллиновый флакон с пробой. Инкубацию от 2 до 72 ч проводят на месте отбора проб. Затем фиксируют 0,2 мл 40% формалином. Обработку пробы проводят в лаборатории, где определяют радиоактивность биомассы и экзометаболитов.

5.4. Определение скорости аэробной деструкции

Определение скорости аэробной деструкции в воде

В склянки объемом 50-200 мл набирают воду доверху, плотно закрывают притертой пробкой и помещают в темный мешок. Параллельно в этой же воде сразу определяют содержание растворенного кислорода. Склянки с водой устанавливают на горизонтах отбора проб и, привязав к тросу, инкубируют 1-10 суток. Затем в опытных склянках определяют содержание кислорода. По формуле (табл. 9) определяют скорость аэробной деструкции.

Определение скорости аэробной деструкции в осадках

В 4 стеклянные трубки набирают донные осадки (5-10 см) с водой. Трубку затыкают с двух сторон резиновыми пробками. В воде одной трубки сразу определяют содержание растворенного кислорода. Остальные трубки закладывают в водоем (желательно) на место отбора проб. Инкубируют 2-10 суток и определяют в воде над илом содержание растворенного кислорода. По разнице содержания кислорода до и после инкубации определяют скорость аэробной деструкции.

5.5. Определение анаэробной деструкции

В четыре стеклянные трубки набирают донные осадки (5-10 см) с водой. Трубку затыкают с двух сторон резиновой пробкой. В воде одной трубки сразу определяют содержание растворенной углекислоты. Остальные трубки закладывают в водоем (желательно) на место отбора проб. Инкубируют 2-10 суток и определяют в воде над илом содержание растворенной углекислоты. По разнице содержания углекислоты до и после инкубации определяют скорость анаэробной деструкции.

5.6. Определение скорости разложения белка

Апликционный метод

Фотобумагу прикрепляют к стеклянной или пластмассовой пластинке, оборачивают полиэтиленовой сеткой и закладывают в воду, осадки и маты. Пластинку с фотобумагой снимают через 1-7 суток, высушивают и определяют зону разжижения желатинового слоя в процентах по формуле:

$$A = Y \cdot 100 / X, \text{ где}$$

A - скорость разложения белка, в %;

X - исходная площадь желатинового слоя;

Y - площадь его разложившейся части.

Радиоизотопный метод

Равномерномеченый ^{14}C -белок (0,1 мл раствора с активностью 5 мкКи) вводят в пенициллиновый флакон с пробой. Инкубацию от 2 до 72 ч проводят на месте отбора проб. Затем фиксируют 0,2 мл 40% формалином. Обработку пробы проводят в лаборатории, где определяют радиоактивность продуктов разложения белка: CO_2 , водорастворимых веществ и биомассы.

5.7. Определение скорости разложения целлюлозы

Апликционный метод

Фильтровальную бумагу, хлопчатобумажную или льняную ткань прикрепляют к стеклянной или пластмассовой пластинке, оборачивают полиэтиленовой сеткой и закладывают в воду, осадки и маты. Пластинку с субстратом снимают через 3-90 суток, высушивают при 75°C и определяют площадь разложившейся части бумаги и ткань. Скорость определяют в процентах по формуле

$$A = Y \cdot 100 / X, \text{ где}$$

A - скорость разложения, в %;

X - исходная площадь бумаги или ткани;

Y - площадь их разложившейся части.

Радиоизотопный метод

Равномерномеченую ^{14}C -целлюлозу (0,1 мл раствора) вводят в пенициллиновый флакон с пробой. Инкубацию от 2 до 72 ч проводят на месте отбора проб. Затем фиксируют 0,2 мл 40% формалином. Обработку пробы проводят в лаборатории, где определяют радиоактивность продуктов целлюлозоразлагающего биоценоза: метана, углекислоты, водорастворимых веществ и биомассы.

5.8. Определение скорости потребления глюкозы

Равномерномеченую ^{14}C -глюкозу (0,1 мл раствора с активностью 5 мкКи) вводят в пенициллиновый флакон с пробой. Инкубацию от 2 до 72 ч проводят на месте отбора проб. Затем фиксируют 0,2 мл 40% формалином. Обработку пробы проводят в лаборатории, где определяют радиоактивность продуктов потребления глюкозы микробным сообществом: метана, углекислоты, летучих жирных кислот, биомассы.

5.9. Определение скорости денитрификации

Воду наливают в склянку емкостью 50 мл, закрывают резиновой пробкой и закручивают металлическим колпачком с отверстием для инъекционной иглы. Затем шприцом вводят 5 мл ацетилен и 25 мкл этанола, при этом избыток воды выливается через вторую иглу. Пробу инкубируют в водоеме в течение 4-12 ч и фиксируют 0,3 мл 40% раствора формалина. Обработку проводят в лаборатории.

Пробу донного осадка или микробного мата в количестве 5-10 мл вносят в склянку емкостью 50 мл с водой. Дальнейший порядок работы такой же, как и с водой. Фиксацию проводят 1 мл 40% раствора формалина. В лаборатории на газовом хроматографе определяют количество образованной бактериями N_2O . Скорость процесса определяют по формуле.

5.10. Определение скорости сульфатредукции

Радиоизотопный метод

³⁴S-сульфат натрия (0,1 мл раствора с активностью 5 мкКи) вводят в пенициллиновый флакон с пробой. Инкубацию от 2 до 72 ч проводят на месте отбора проб. Затем фиксируют 0,1 мл ацетатом Cd (2,5%) или Zn (5%) на 10 мл пробы. В лаборатории определяют радиоактивность синтезированного сульфатредукторами ³⁴S - сероводорода и других продуктов метаболизма.

Титриметрический метод

Пробу осадков или мата 10 мл внести в 4 флакона объемом 50 мл. Залить доверху придонной водой. В 2 флакона добавить ацетат Cd или Zn для фиксации процесса. Инкубировать флаконы 10-24 ч. В 2 опытные флаконы добавить ацетат Cd или Zn. Определить в водной фазе содержание сульфатов. Скорость сульфатредукции определить по формуле:

$$A = C_1 - C_2 / T, \text{ где}$$

A - скорость образования сероводорода, мг S в ч или сутки;

C₁ - содержание сульфатов до инкубации;

C₂ - содержание сульфатов после инкубации;

T - время, ч или сутки.

Для пересчета концентрации сульфатов используют следующие соотношения:

1 мМ SO₄ = 0,096 мг SO₄; 1 мкМ SO₄ = 0,096 мкг SO₄;

1 нМ SO₄ = 0,096 нг SO₄.

5.11. Определение скорости метаногенеза

Радиоизотопный метод

¹⁴C-бикарбонат натрия или ¹⁴C-ацетат натрия или ¹⁴C-формиат (0,1 мл раствора с активностью 5 мкКи) вводят в пенициллиновый флакон с пробой. Инкубацию от 2 до 72 ч проводят на месте отбора проб. Затем фиксируют 0,2 мл 40%-ного раствора формалина или 0,2 мл 10 N щелочью. Обработку пробы проводят в лаборатории, где определяют радиоактивность синтезированного бактериями метана.

Газохроматографический метод

Пробу осадков или мата 10 мл внести в 4 флакона объемом 50 мл. Залить доверху придонной водой. В 2 флакона добавить щелочь для фиксации процесса. Инкубировать флаконы 10-24 ч. В 2 опытные флаконы добавить щелочь. Затем удалить 5 мл воды, заполняя газовую фазу N_2 . Встряхивать 5 мин и транспортировать в лабораторию для определения CH_4 на газовом хроматографе. Скорость процесса определить по формуле:

$$A = C_1 - C_2 / T, \text{ где}$$

A - скорость образования метана, мкл CH_4 в ч или сутки;

C_1 - содержание метана до инкубации;

C_2 - содержание метана после инкубации;

T - время инкубации, ч или сутки.

Для пересчета концентрации метана используют следующие соотношения:

1 мМ $CH_4 = 0,0224$ мл CH_4 ; 1 мкМ $CH_4 = 0,0224$ мкл CH_4 ;

1 нМ $CH_4 = 0,0224$ нл CH_4 .

1 мМ $CH_4 = 0,016$ мг CH_4 ; 1 мкМ $CH_4 = 0,016$ мкг CH_4 ;

1 нМ $CH_4 = 0,016$ нг CH_4 .

5.12. Определение скорости окисления метана

Радиоизотопный метод

^{14}C -метан (0,1 мл с активностью 2,5 мкКи) вводят в пенициллиновый флакон с пробой. Инкубацию от 2 до 72 ч проводят на месте отбора проб. Затем фиксируют 0,2 мл 40% формалина. Обработку пробы проводят в лаборатории.

Газохроматографический метод

Пробу осадков или мата 10 мл внести в 4 флакона объемом 50 мл. Залить доверху придонной водой. В 2 флакона добавить щелочь для фиксации процесса. Инкубировать флаконы 10 - 24 ч. В 2 опытные флаконы добавить щелочь. Затем удалить 5 мл воды, заполняя газовую фазу N_2 . Встряхивать 5 мин и транспортировать в лабораторию для определения CH_4 на газовом хроматографе.

Скорость процесса определить по формуле:

$$A = C_1 - C_2 / T, \text{ где}$$

A - скорость окисления метана, мкл CH_4 в ч или сутки;

C_1 - содержание метана до инкубации;

C_2 - содержание метана после инкубации;

T - время инкубации, ч или сутки.

5.13. Определение скорости нитрификации

Пробу воды наливают в 3 флакона объемом 50 мл и добавляют ^{14}C -бикарбонат натрия (0,1 мл раствора с активностью 2,5 мкК). Первый флакон опытный. Во второй добавляют 0,1 мл 0,04% этанола, в третий – 5 мг/л нитрапирина (0,04% раствор в этаноле). Пробы инкубируют в черных мешках в течение 12-14 ч. Фиксация – 0,3 мл 40% формалина. В лаборатории определяют радиоактивность бактериальных клеток, фиксировавших ^{14}C -бикарбонат натрия.

Пробу донных осадков или микробного мата объемом 5-10 мл вносят в 3 флакона с водой. Дальнейший порядок работы такой же, как и с водой. Только при фиксации используют 1 мл 40% раствора формалина.

5.14. Определение скорости азотфиксации

Воду наливают в склянку емкостью 50 мл, закрывают резиновой пробкой и закручивают металлическим колпачком с отверстием для инъекционной иглы. Затем шприцом вводят 5 мл ацетилена и 25 мкл этанола, при этом избыток воды выливается через вторую иглу. Пробу инкубируют в водоеме в течение 4-12 ч и фиксируют 0,3 мл 40% раствора формалина. Количество образованного этилена определяют на газовом хроматографе.

Пробу донного осадка или микробного мата в количестве 5-10 мл вносят в склянку емкостью 50 мл с водой. Дальнейший порядок работы такой же, как и с водой. Фиксацию проводят 1 мл 40% раствора формалина.

5.15. Определение скорости ацетогенеза

Радиоизотопный метод

¹⁴C-бикарбонат натрия (0,1 мл раствора с активностью 5 мкКи) вводят в пенициллиновый флакон с пробой. Инкубацию от 2 до 72 ч проводят на месте отбора проб. Затем фиксируют 0,2 мл 40% формалином или 0,2 мл 10 N щелочью. Обработку пробы проводят в лаборатории, где определяют радиоактивность образованного ацетата.

5.16. Определение скорости разложения растительных остатков

Собранные с места исследования растения высушивают при 70°C до получения постоянного веса. Определенную массу сухих растений помещают в капроновый мешочек с различными ячейками. Мелкий размер ячеек используется при изучении только микробной деятельности, более крупный размер ячеек – при изучении влияния зоопланктона, зообентоса и почвенных животных. В эксперименте на одно место помещают 3 и более мешочков, чтобы изучить динамику разложения во времени. Мешочки снимают через определенное время. Содержимое высушивают при 70°C и взвешивают. По формуле определяют скорость разложения растительных остатков за время опыта (%):

$$V = (A_1 - A_2) 100 / A_1, \text{ где}$$

A₁ - вес мешочка с растительными остатками до опыта;

A₂ - его вес после опыта.

6. Микробиологический анализ

Определение численности микроорганизмов и их активности, изучение их видового разнообразия проводится при оценке роли микроорганизмов в процессах круговорота веществ и энергии в водоемах (табл. 10).

Таблица 10

Микробиологический анализ

Анализ	Проба	Подготовка пробы для анализа
1	2	3
Определение общей численности бактерий	Вода Осадки, мат	Фильтрация, высушивание Фиксация этанолом (1:2)
Микроскопирование проб	Вода Осадки, мат	Фильтрация, высушивание Фиксация этанолом (1:2), глутаральдегидом, глицерином
Изучение микробного пейзажа	Водоем	Постановка предметного стекла в водоем
Определение ферментативной активности	Вода, осадки, мат	Определение активности <i>in situ</i> Отбор проб для лабораторного анализа, хранение на холоду в темноте
Выявление и учет численности физиологических групп	Вода, осадки, мат	Посев на селективные среды Отбор проб для лабораторных анализов, хранение на холоду и темноте
Выявление и учет спорных бактерий	Вода, осадки, мат	Посев на селективные среды Отбор проб для лабораторных анализов, хранение на холоду и темноте
Определение биомассы бактерий	Вода Осадки, мат	Фильтрация, высушивание Фиксация этанолом (1:2)
Определение скорости роста бактерий	Вода Осадки, мат	Фильтрация, высушивание Фиксация этанолом (1:2)
Выявление и анализ биомаркеров бактерий	Вода Осадки, мат	Фильтрация, высушивание Фиксация этанолом (1:2)

1	2	3
Выявление и учет водорослей и микромицетов	Вода Осадки, мат	Фильтрация, высушивание Фиксация этанолом (1:2)
Выявление и учет эпифитных бактерий	Растения, камни	Посев на селективные среды Соскоб с 1-5 см ² поверхности растений или камня, хранение на холоду и темноте

6.1. Изучение микробного пейзажа

Структуру микробного сообщества в воде, осадках и почве изучают при помощи стекол обрастания.

Для этого обезжиренное предметное стекло помещают в воду, осадки и почву от 1 до 10 суток в зависимости от активности микроорганизмов и экспедиционных условий. Затем снимают и высушивают. При транспортировке беречь одну сторону стекла от механического повреждения. В лаборатории одну сторону очищают, на второй стороне красят (метиленовым синим, акридиновым оранжевым или другими красителями) микробные клетки и под микроскопом просматривают. Для изучения распределения клеток бактерий необходимо провести непрерывный просмотр по профилю, что дает возможность изучения пространственного распределения, подсчет и фотографирование клеток.

6.2. Определение ферментативной активности

Активность дегидрогеназы. 5-10 мл донных осадков или мата набирают во флакон, добавляют 100 мг CaCO₃, 5 мл 3% раствора солянокислого 2,3,5-трифенилтетразолия и инкубируют 20 ч при 25°C. При этом дегидрогеназа восстанавливает трифенилтетразолий до красного формазана. Краску экстрагируют 50 мл этилового спирта, раствор фильтруют и его экстинкцию определяют в спектрофотометре при длине волны 546 нм. Значение умножают на 1000.

6.3. Отбор проб для микробиологического анализа в лаборатории

Пробы воды, осадков и мата отбирают в стерильную посуду. Для микробиологических посевов пробы должны храниться при низкой температуре, в темноте. Для микроскопии пробы осадков, почвы и мата (2-5 мл) фиксируют этанолом (1:2), глутаральдегидом, глицерином. Воду 5-50 мл в зависимости от численности микроорганизмов фильтруют через фильтр с порами диаметром 0,4 мк при определении водорослей и цианобактерий, 0,2 мк при определении эу- и архебактерий.

6.4. Определение общей численности бактерий

1. Пробу ила фиксируют этанолом (1:2). На обезжиренное предметное стекло нанести 0,1 мл ил на площади 1 см². Добавить 0,5 мл 5% эритрозина в 5% растворе карболовой воды. Промыть стерильной водой до исчезновения краски. Высушить над пламенем спиртовки или зажигалки. Транспортировать в лабораторию в коробке, предохраняя от механического повреждения.

2. Пробу ила или мата 1-10 мл развести в 10 раз стерильной дистиллированной водой. Добавить Твин - 80 и интенсивно трясги в течение 1 ч для десорбции клеток бактерий. Затем отобрать 10-20 мл водного раствора и фильтровать через мембранный фильтр. На фильтр капнуть 0,5 мл 5%-ного раствора эритрозина, приготовленного в 5%-ном растворе карболовой воды, и положить в чашку Петри с мокрой фильтровальной бумагой на 1 сутки. Затем краску отмыть, перекадывая фильтр на мокрую фильтровальную бумагу и высушить. Транспортировать в лабораторию в коробке, предохраняя от механического повреждения.

6.5. Посев на элективные культуральные среды

В экспедиционных условиях проводят посев проб воды, осадков, матов на готовые культуральные среды для выявления и учета представителей различных физиологических групп бактерий. Посев проводится с использованием пламени спиртовки. Пробирки с посевом инкубируют при температуре от 25 до 30°C, если

позволяют условия, или при температуре окружающей среды, избегая резких перепадов температуры.

6.6. Выявление и учет споровых бактерий

100 мл воды отобрать во флакон, закрыть ватной пробкой или фольгой и нагреть при 80°C в течение 15 мин. Затем проводить посев на соответствующую селективную среду. 10 мл пробы донных осадков или мата добавить в 90 мл дистиллированной воды, закрыть ватной пробкой или фольгой и нагреть при 80°C в течение 15 мин. Затем проводить посев на соответствующую селективную среду.

6.7. Выявление и учет эпифитных бактерий

Микробные обрастания собирают, используя жесткую кисточку или скальпель, с 1-5 см² поверхности растений или камня в 10 мл стерильного физиологического раствора. До лаборатории пробы хранить на холоде и темноте. В экспедиционных условиях проводят посев проб на готовые культуральные среды.

7. Отбор проб для лабораторных микробиологических и физико-химических исследований

При изучении деятельности водных микроорганизмов необходимо проведение лабораторных экспериментов (табл. 11).

7.1. Консервация проб

Проба, отобранная в поле, должна быть законсервирована, чтобы не произошли химические и микробиологические изменения компонентного состава до проведения анализа в лаборатории. В основном для консервации воды используют замораживание, добавление хлороформа, формалина, удаление макро- и микроорганизмов фильтрованием. Для консервации донных отложений, почвы, растительных остатков и микробных матов используют замораживание, добавление формалина, этанола, высушивание.

Таблица 11

Подготовка проб для лабораторного исследования

Анализ	Проба	Подготовка пробы для анализа
Молекулярно-биологический	Вода, осадки, мат	Фильтрация, высушивание. Отбор в полиэтиленовые пакеты, стеклянную посуду, хранение при низкой температуре
Определение влажности	Осадки	Отбор проб в герметичную посуду
Гидрохимический	Вода	Отбор в полиэтиленовую бутылку
Определение органического вещества	Вода, осадки, мат	Фильтрация, высушивание. Отбор в полиэтиленовые пакеты, стеклянную посуду, хранение при низкой температуре или высушивание.
Определение сероводорода и сульфидов	Вода, осадки, мат	Фиксация 10% раствором ацетата Cd или Zn
Определение хлорофилла	Вода, осадки, мат	Фильтрация, фиксация 50% глицерином Фиксация 50% глицерином
Определение газов	Вода, осадки, мат	Отбор в стеклянную посуду. Для фиксации добавить сухую щелочь.
Определение общего железа	Вода	К отфильтрованной воде добавить ацетатный буфер (на 1 л пробы 25 мл ацетата Na и 25 мл раствора уксусной кислоты).
Определение стабильных изотопов	Осадки, мат	Отбор в полиэтиленовые пакеты, стеклянную посуду, хранение при низкой температуре или высушивание
Определение тяжелых металлов	Вода, осадки, мат	Для консервации добавить 5 мл азотной кислоты на 1 л пробы.
Видового состава и биомассы растений	Растения	Определение проективного покрытия, сбор растений
Определение радиоактивности	Вода Осадки, мат	Отбор проб в герметичную посуду. Отбор проб в полиэтиленовый пакет

7.2. Отбор проб для молекулярно-биологических исследований

При изучении разнообразия микроорганизмов и их видового состава используют молекулярно-биологические методы исследования. При помощи этих методов изучают структуру микробных ДНК и РНК, состав белков и липидов. Пробы воды, осадков и матов используют для выделения ДНК, проведения ПЦР, клонирования генов, FISH метода, получения ДНК зондов, определения состава белков и липидов.

Для проведения молекулярно-биологических исследований воду фильтруют через газовую сетку, фильтры диаметром пор 0,4 мк и 0,2 мк для раздельной концентрации водорослей, цианобактерий, эубактерий и архебактерий. Фильтры с пробами высушить.

Донные осадки и микробные маты до лаборатории хранить при температуре ниже 5°C в стеклянной посуде или полиэтиленовом пакете.

Почву просеивают через сито с диаметром ячеек 3 мм, освобождают от корней и растительных остатков. Хранение при 4-6°C в полиэтиленовом пакете.

7.3. Отбор проб для определения влажности

Пробу ила и почвы поместить в герметично закрывающийся стеклянный флакон. Сушить пробы при 100-105°C в течение 5-10 ч до постоянного веса. Для расчета влажности используют формулу (%):

$$Q_{H_2O} = (B - B_1) \cdot 100 / B_1, \text{ где}$$

B - вес сырой пробы;

B₁ - вес сухой пробы.

7.4. Отбор проб для определения и анализа органического вещества (C_{орг})

Для определения C_{орг}, углеводов, полисахаридов, целлюлозы, глюкозы, белка, аминокислот, летучих и нелетучих жирных кислот осадки и мат сразу помещают в морозильник и транспортируют в замороженном виде. Осадки и мат можно высушить в чашке Петри, на алюминиевой фольге или эмалированном подносе на ветру,

оберегая от прямого солнечного света. Возможно, при этом теряется часть летучих жирных кислот.

7.5. Отбор проб воды для определения ионного состава

Воду для определения сульфатов, хлоридов, фосфатов (P_2O_3), ионов K, Na, Ca, Mg и отбирают в чистые полиэтиленовые и стеклянные бутылки. До лаборатории пробы хранить в темном месте при низкой температуре.

7.6. Отбор проб для определения сероводорода и сульфидов

Пробы воды, осадков и матов фиксируют ацетатом Cd или ацетатом Zn. На 10-50 мл воды добавляют фиксатор на кончике ножа или скальпеля. Осадки и мат фиксируют 10%-ным раствором этих реактивов.

7.7. Отбор проб для определения хлорофилла

Воду (100-1000 мл) фильтруют при помощи шприца или фильтровальной установки через бумажный фильтр с диаметром пор 0,6 мкм и заливают 96% этиловым спиртом. Мат и поверхностные слои осадков (площадью 1 см² или объемом 1 мл) сразу же помещают в 96% этиловый спирт. В лаборатории хлорофилл «а» определяют спектрофотометрически при длине волны 665 нм. Для расчета содержания хлорофилла «а» используют формулы:

$$C_{\text{хл «а»}} = 11,9 \text{ ОП}_{665} (v/ l) / S, \text{ мкг/см}^2 \text{ или}$$
$$C_{\text{хл «а»}} = 11,9 \text{ ОП}_{665} (v/ l) / V, \text{ мкг/мл, где}$$

ОП_{665} - оптическая плотность при длине волны 665 нм;

v - объем экстракта в мл;

l - длина кюветы;

S - площадь образца, см²;

V- объем образца, мл.

7.8. Отбор проб для определения концентрации газов

Пробы воды отбирают в чистые стеклянные флаконы объемом 50 - 200 мл до верху. Шприцом без наконечника выдавить определенный объем воды и закрыть плотно крышкой с резиновой прокладкой и отверстием для отбора проб.

Пробы осадков и матов объемом 2-10 мл отбирают шприцом без наконечника. В стеклянный флакон объемом 50-200 мл наливают охлажденную кипяченную дистиллированную воду до верху и туда опускают пробу осадков или матов. Затем выталкивают шприцом без наконечника определенный объем воды и закрывают плотно крышкой с резиновой прокладкой и отверстием для отбора проб.

Для расчета записать объем флакона, осадка или мата, воды и воздуха во флаконе. В лаборатории содержание газов определяют на газовом хроматографе.

7.9. Отбор проб для определения изотопного состава углерода, кислорода и серы, изучения минералов

Осадки и мат, если можно – послойно или целиком, высушивают на ветру, оберегая от прямого солнечного света, или в сушильном шкафу.

7.10. Отбор проб иловой воды для химического анализа

В полевых условиях используют специальный поршневой шприц (Вайнштейн, Лауринавичус, 1988).

В шприц набирают ил и при помощи поршня выдавливают иловую воду в пенициллиновый флакон.

При наличии электричества иловую воду можно получать при помощи центрифуги. Для этого в центрифужный стакан набирают ил и центрифугируют при скорости 3000 оборотов в секунду 15-20 мин. После остановки из стакана осторожно набирают иловую воду.

В теплое время года в иловую воду добавляют антисептик или хранят пробу в холодильнике, в холодное время – можно заморозить.

7.11. Отбор проб растений для химического анализа, определения видового состава и биомассы

В районе отбора проб определить проективное покрытие растительности на площади 0,5x0,5 или 1x1 м. Провести сбор растений для составления гербарий. Собрать и высушить растения (более 1-2 кг) для микробиологии и химии, определения биомассы.

7.12. Отбор проб воды, донных осадков и породы для определения радиоактивности

В районе отбора проб определяют радиоактивность походным радиометром. Отбор проб воды для определения радиоактивности радона осуществлять в герметичную стеклянную посуду. Период полураспада радона 3,825 дня.

1 единица Махе = $3,64 \cdot 10^{-10}$ Ки/л = 3,64 эман.

1 эман = 10^{-10} Ки/л

Таблица 12

Радиоактивность источников

Тип источника	Радиоактивность, эман
Сильно радиоактивный	1000 – 10000
Радиоактивный	100 – 1000
Слабо радиоактивный	10 – 100

8. Обработка и анализ результатов

Важным этапом исследования водоемов является обработка и анализ полученных результатов. При проведении исследований необходимо вести протокол, куда записывают время и условия отбора проб, проведение экспериментов, результаты гидрологических, физико-химических и гидробиологических измерений. Примерный план протокола дан в приложении. Протокол обычно ведется в полевом дневнике или специальной тетради. В банк данных вносятся первичные данные. Если сделаны исправления, то записать причину.

Отчет по экспедиции включает описание водоема и микробного сообщества, гидрологические, физические и химические данные, координаты места отбора, количество проб, сроки инкубации, время фиксации, количество реагентов и изотопов, список участников и ответственных за определенные этапы работы. К отчету прилагаются фотоснимки.

Статистическая обработка данных с использованием дисперсионного и корреляционного анализов, метода главных компонент позволит выявить зависимость между абиотическими и биотическими факторами, связь между экофизиологическими группами бактерий (Плохинский, 1969).

Заключение

Гидрохимические и микробиологические исследования проводятся для количественной и качественной характеристики экологического состояния водоемов, оценки функциональной активности микроорганизмов. Эти исследования позволяют выяснить геохимическую роль микроорганизмов в водных системах. Для успешных экологических исследований необходимо постоянное совершенствование методов и методологических подходов.

Авторы данного пособия надеются, что представленный материал по подготовке и организации экспедиций, описанию методов полевых работ помогут научным сотрудникам и преподавателям учебных заведений, студентам и аспирантам в проведении исследований по гидрохимии и микробиологии водных систем.

Ключевая роль микроорганизмов в круговороте биогенных элементов, продукции и деструкции органического вещества, биогеохимических циклах в биосфере показывает необходимость изучения и оценки их деятельности в водных экосистемах.

Список использованной литературы

- Алекин О.А., Семенов А.Д., Скопинцев Б.А. Руководство по химическому анализу вод суши. Л.: Гидрометеиздат, 1973. - 280 с.
- Вайнштейн М.Б., Лауринавичус К.С. Учет и культивирование анаэробных бактерий. Пушкино: ОНТИ НЦБИ АН СССР, 1988. - 64 с.
- Воробьева Л.А. Химический анализ почв. М.: Изд-во МГУ, 1998. - 272 с.
- Громов Б.В., Павленко Г.В. Экология бактерий. Л.: Изд-во Ленингр. Ун-та, 1987. – 248 с.
- Горленко В.М., Дубинина Г.А., Кузнецов С.И. Экология водных микроорганизмов. М.: Наука, 1977. - 288 с.
- Заварзин Г.А. Литотрофные бактерии. М.: Наука, 1972. - 323 с.
- Заварзин Г.А. Лекции по природоведческой микробиологии. М.: Наука, 2003. - 348 с.
- Иванов М.В., Френей Дж. Глобальный биохимический цикл серы и влияние на него деятельности человека. М.: Наука, 1979. - 450 с.
- Исаченко Б.Л. Избранные труды. М.: Изд-во АН СССР, 1951. - 264 с.
- Крисс А.Е. Морская микробиология (глубоководная). М.: Изд-во АН СССР, 1959. - 232 с.
- Кузнецов С.И., Иванов М.В., Ляликова Н.М. Введение в геологическую микробиологию. М.: Изд-во АН СССР, 1962. – 126 с.
- Кузнецов С.И. Микрофлора озер и ее геохимическая деятельность. Л.: Наука, 1970. - 440 с.
- Кузнецов С.И., Саралов А.И., Назина Т.Н. Микробиологические процессы круговорота углерода и азота в озерах. М.: Изд-во АН СССР, 1985. - 213 с.
- Кузнецов С.И., Дубинина Г.А. Методы изучения водных микроорганизмов. М.: Наука, 1989. - 288 с.
- Лурье Ю.Ю. Аналитическая химия промышленных сточных вод. – М.: Химия, 1984. - 448 с.

Муравьев А.Г. Руководство по определению показателей качества воды полевыми методами. – СПб: Изд-во «Крисмас+», 1999. – 232 с.

Нетрусов А.И., Бонч-Осмоловская Е.А., Горленко В.М. и др. Экология микроорганизмов. М.: Академия, 2004. - 272 с.

Определение основных характеристик природных вод. Учебно-методическое пособие / Сост. Ханхасаева С.Ц., Батоева А.А. - Улан-Удэ: Издательство БГУ, 2001. - 64 с.

Плохинский Н.А. Алгоритмы биометрии. Изд-во МГУ.: М, 1967. - 82 с.

Резников А.А., Муликовская Е.П., Соколов И.Ю. Методы анализа природных вод. – М.: Недра, 1970. - 325 с.

Романенко В.И., Кузнецов С.И. Экология микроорганизмов пресных водоемов. Лабораторное руководство. - Л.: Наука, 1974. - 194 с.

Справочник путешественника и краеведа / Под. Ред. С.В. Обручева. М.: Изд-во географической лит-ры, 1949. Том 1. - 738 с.

Справочник путешественника и краеведа / Под. Ред. С.В. Обручева. М.: Изд-во географической лит-ры, 1950. Том 2. - 688 с.

Федоров В.Д. О методах изучения фитопланктона и его активности. М.: Изд-во МГУ, 1979. - 168 с.

Sorokin Yu. Aquatic microbial ecology. Leiden: Backhuys, 1999. - 342 p.

Zobell C.E. Marine Microbiology. Wiltham Mass. USA. 1946. - 284 p.

План работы на водоеме

1. Обустройство лагеря: установка палатки, тенты, развернуть кухню, приготовить дрова, подготовить место для костра.
2. Осмотр и описание водоема. В полевом дневнике указать: дату, время, название, глубину, площадь, форму. Нарисовать схему объекта.
3. Выбор места отбора проб. Записать координаты, глубину, расстояние от берега и от выхода источника. Нарисовать схему места отбора проб и ориентиры.
4. Подготовить приборы для отбора проб: собрать, почистить, стерилизовать. При отборе проб соблюдать технику безопасности.
5. Определение температуры, рН, Eh, минерализации.
6. Изучение донных отложений: тип, гранулометрический состав, цвет, слои, температура, рН, Eh.
7. Изучение микробного мата: температура, рН, Eh, тип, структура, цвет, слои, толщина.
8. Анализ воды: определение кислорода, карбонатов, сульфатов, сульфидов, щелочности, дебита.
9. Постановка радиоизотопных проб. Записать время внесения изотопа. Инкубация от 2 до 72 ч. Фиксация проб. Записать дату и время фиксации.
10. Установка стекол обрастания. Инкубация 1-5 суток.
11. Постановка аппликационного метода. Инкубация 1-5 суток.
12. Отбор проб воды в стерильную стеклянную посуду (0,5-1 л) для микробиологического анализа.
13. Отбор проб воды в чистую полиэтиленовую или стеклянную посуду (1-2 л) для химического анализа. Фиксация проб.
14. Отбор проб донных отложений в стерильную посуду или полиэтиленовый пакет (0,2-1 л) для микробиологического анализа. Отбор по слоям.
15. Отбор проб донных отложений для химического анализа в стеклянную посуду или полиэтиленовый пакет (0,5-2 л) для химии. Фиксация проб.
16. Отбор проб мата в стерильную посуду или полиэтиленовый пакет (0,2-0,5 л) для микробиологического анализа.

17. Отбор проб мата в стеклянную посуду или полиэтиленовый пакет (0,5-2 л) для химического анализа. Отбор проб по слоям. Фиксация проб.
18. Отбор проб донных осадков, мата и воды для микрокосма (3-5 л).
19. Описание породы, солей и почвы.
20. Отбор проб прибрежной почвы для микробиологического и химического анализа (1-2 кг).
21. Описание прибрежной и водной растительности.
22. Отбор проб растений для микробиологического и химического анализа. Определение вида и биомассы.
23. Описание макрофауны: вид, численность.
24. Фотографирование водоема, мест отбора проб, матов, осадков, процесса отбора проб.
25. Сбор материала у местных жителей о водоеме (легенды, песни, публикации) фото, использование населением, естественные и антропогенные изменения).
26. Упаковка проб, укладка экспедиционного и научного оборудования в машину.
27. Сбор мусора и уборка места лагеря.

Приложение 2

Правила безопасности в экспедиции

Каждый день перед выездом проводить осмотр и ремонт машины. Проверить упаковку и крепление багажа. Запрещается отдых под машиной и рядом с ней. Запрещаются одиночные маршруты.

Палатки ставить на возвышенностях, в незатопляемых местах, подальше от одиноких и высоких деревьев, крутых склонов.

При грозах держаться подальше от электролиний и их опор, одиноких деревьев и металлических предметов.

При работе на воде в лодке и при переходе через реку надевать спасательный жилет.

При переправе на машине через брод и старые мосты проверять состояние брода и моста. При переправе пешком через реки использовать палки, веревки. Обязательно страховать друг друга.

Не разрешается без надобности лазить по скалам и горам. При необходимости страховать друг друга.

Для защиты от змей при работе на водоемах надевать туристические ботинки или резиновые сапоги. Для ночлега и отдыха использовать палатки с днищем. Для защиты от змей можно использовать веревки, изготовленные из овечьей шерсти или конских волос. Этими веревками ограждают места ночлега, отдыха и работы. При укусе змеи пострадавшего отвести в лечебное учреждение.

Для защиты от укусов ос, пчел, комаров и гнуса необходимо использовать накомарники и противоэнцефалитные костюмы.

Для защиты от клещей надевать противоэнцефалитный костюм, заправить штанины в носки, застегнуть рукава, надеть головной убор, одежду опрыскивать жидкостью против насекомых, проводить осмотр тела. При укусе пострадавшего отвести в лечебное учреждение. Сделать прививку иммуноглобулином. Осторожно снять клеща, положить в баночку и сдать в лабораторию.

Костер разжигать в земляной или каменной яме подальше от палаток и машины. Предварительно убрать листвоу опад. Костер не оставлять без присмотра. При отъезде тушить костер и закопать костре.

Приложение 3

Протокол исследования

Дата проведения исследования. Название, место расположения и описание водоема.

Место отбора проб. Краткое обозначение проб (Первые две буквы названия водоема – год – номер станции – горизонт. Например: Га-03-1-0, Гарга-2003-станция 1-горизонт 0). Координаты. Ориентиры. Глубина отбора (см или м). Горизонты отбора (см или мм). Описание проб воды, осадков и матов.

Значения температуры, рН, минерализации, Eh. Цифры титрования и содержание карбонатов, кислорода.

Время постановки и снятия радиоизотопных и аппликационных опытов.

Список проб воды, осадков и матов для обработки в лаборатории, количество.

Список участников экспедиции и ответственных исполнителей работ.

Научное оборудование

Термометры электронный, ртутный и спиртовой. Портативный рН метр, рН-индикаторные бумаги. Кондуктометр. Бинобль. Фотоаппарат. Фотоплетки. Радиометр. Измеритель редокс-потенциала (Еh). Эхолот. Прибор для определения местоположения (координат). Батарейки для приборов, фонарей.

Походный фотоколориметр. Батометр. Стратометр. Трубки из оргстекла. Пенициллиновые флаконы для радиоизотопии, отбора проб. Резиновые пробки. Аллюминиевые колпачки. Кримплер. Растворы радиоизотопов в бюксе. Линейка, рулетка. Скальпель. Пинцет. Нож. Ножницы. Лейкопластырь. Скотч.

Шприцы объемом 1, 2, 5, 10 и 50 мл. Резиновые и полиэтиленовые трубки. Подносы. Штатив для пенициллиновых флаконов. Аптекарские весы.

Бутылки полиэтиленовые 0,5-2 л для химии воды. Стерильные стеклянные бутылки, флаконы 0,5-1 л для микробиологии. Полиэтиленовые пакеты для ила. Банки 0,2-1 л для ила.

Походный холодильник, электрогенератор.

Список химических реактивов

Наименование реактива (раствора)	Определяемые показатели
1	2
соляная кислота HCl	карбонаты, гидрокарбонаты, щелочность, кислород, фосфаты, кремнекислота, скорость процессов
метиловый оранжевый	карбонаты, гидрокарбонаты, углекислота, скорость процессов
фенолфталеин	карбонаты, гидрокарбонаты, углекислота, скорость процессов
эриохром черный Т сухой	ионы кальция, жесткость
карбонат натрия Na ₂ CO ₃	углекислота
сегнетова соль KnaC ₄ H ₄ O ₆	углекислота, аммиак, ионы аммония, нитраты

1	2
аммиак NH_4OH	жесткость, железо
хлористый аммоний NH_4Cl	жесткость, аммиак, ионы аммония
трилон Б (этилендиаминтетра-ацетат натрия)	жесткость
хлористый или серноокислый марганец	кислород, продукция $\text{C}_{\text{орг}}$, БПК, скорость процессов
йодистый калий KJ	кислород, продукция $\text{C}_{\text{орг}}$, БПК, скорость процессов
тиосульфата натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	кислород, продукция $\text{C}_{\text{орг}}$, БПК, скорость процессов
крахмал	кислород, продукция $\text{C}_{\text{орг}}$, БПК, скорость процессов
хромат калия K_2CrO_4	хлориды
нитрат серебра AgNO_3	хлориды
этиленгликоль	сульфаты
хлорида бария BaCl_2	сульфаты
сульфат калия K_2SO_4	сульфаты
дифенил-пара-фенилендиамин	сероводород, сульфиды
серная кислота H_2SO_4	кислород, сероводород, нитраты, железо
железоаммонийные квасцы $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2$	сероводород, сульфиды, железо
ацетат кадмия	сероводород, сульфиды, фиксация процесса
ацетат цинка	сероводород, сульфиды, фиксация процесса
сульфида натрия NaS_2	сероводород, сульфиды
$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$	фосфаты
аскорбиновая кислота	фосфаты
реактив Несслера	аммиак, ионы аммония
гидроксид алюминия	аммиак, ионы аммония, нитраты
фосфатный буфер с $\text{pH}=7,4$	аммиак, ионы аммония
хлорид аммония NH_4Cl	аммиак, ионы аммония
салицилат натрия	нитрат
нитрат калия KNO_3	нитраты
реактив Грисса	нитриты
салициловая кислота	железо

1	2
аммония молибдат $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$	кремнекислота
формалин	фиксация процессов
KOH, NaOH	фиксация процессов, нитраты, углекислота
азид натрия	ингибитор процессов
диурон	ингибитор процессов
глицерин	фиксация пробы
этанол	фиксация пробы, сульфаты
глутаровый альдегид	фиксация пробы
$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$	калибровка прецизионного определителя редокс-потенциала
$\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$	
KCl	
NaCl	калибровка прецизионного кондуктометра, хлориды
дистиллированная вода	приготовление растворов

Приложение 6

Кисотно-основные индикаторы (по Воробьевой, 1998)

Индикатор	Концентрация, %	Растворитель	Интервал pH изменения окраски	Окраска индикатора
1	2	3	4	5
Пикриновая кислота	1,0	Вода	0,0-1,3	Бесцветно-желтая
Малахитовый зеленый	насыщ. раствор	Этанол	0,0-2,0 11,5-14,0	Желто-зеленая Зелено-бесцветная
Крезоловый красный	0,04	50%-ный раствор	0,2-1,8 7,2-8,8	Красно-желтая Желто-пурпурная
Тимоловый синий	0,1	20%-ный этанол	1,2-2,8 8,0-9,6	Красно-желтая Желто-синяя

1	2	3	4	5
В-динитро-фенол	0,1-0.04	Вода	1,7-4,4	Бесцветно-желтая
Метилловый оранжевый	0,1	Вода	3,0-4,4	Оранжево-желтая
Конго красный	0,1	Вода	3,0-5,2	Сине-фиолетово-красная
Бромкрезоловый зеленый	0,1	20%-ный этанол	3,8-5,4	Желто - синяя
Метилловый красный	0,1	60%-ный этанол	4,4-6,2	Красно-желтая
Бромтимоловый синий	0,05-0,1	20%-ный этанол	6,0-7,6	Желто-синяя
Феноловый красный	0,1	20%-ный этанол	6,4-8,0	Желто-красная
Фенолфта-леин	0,1	90%-ный этанол	9,4-10,6	Бесцветно-пурпурная
Тимолфта-леин	0,1	90%-ный этанол	9,4-10,6	Бесцветно-синяя
Нитрамин	0,1	70%-ный этанол	11,0-12,5	Бесцветно - красно-коричневая

Приложение 7

Эквивалентные веса и коэффициенты для пересчета мг/л в мг-экв/л и обратно

Ион	Эквивалентный вес для перевода из мг-экв в мг	Коэффициент для перевода из мг в мг-экв
Na ⁺	23,00	0,0435
K ⁺	39,10	0,0256
Mg ²⁺	12,16	0,0822
Ca ²⁺	20,04	0,0499
Cl ⁻	35,46	0,0282
SO ₄ ²⁻	48,03	0,0208
HCO ₃ ⁻	61,02	0,0164
CO ₃ ²⁻	30,01	0,0333

Коэффициенты пересчета ионов на элементы

Ион	Элемент	Коэффициент пересчета
HCO_3^-	C	0,197
CO_3^{2-}	C	0,200
SO_4^{2-}	S	0,334
NH_4^+	N	0,776
NO_2^-	N	0,304
NO_3^-	N	0,226
$\text{H}_2\text{PO}_4^{2-}$	P	0,319
HPO_4^-	P	0,323
PO_4^{3-}	P	0,326
H_3SiO_4^-	Si	0,295

Экспедиционное оборудование

Палатки. Тент. Полиэтилен. Брезент. Столик походный. Стулья. Фонарь. Спички. Свечи.

Таган. Газовая плита. Газовый баллон. Паяльная лампа. Треногу для паяльника. Шмель. Ведро. Котелки - 2. Кастрюля. Сковородка. Поварешка. Тазик. Ножи. Консервный нож. Штопор. Рюмки. Клеенка. Канистра для бензина. Дрова. Фляга для воды. Термос. Топор. Лопата. Пила.

Мазь от комаров и других насекомых. Вертки разной толщины и длины. Изолента. Скотч. Клей. Ручки. Карандаш. Бумага. Блокнот. Стиральный порошок. Мыло. Полотенце. Средство для мытья посуды. Ножницы. Туалетная бумага. Спирт. Мешки для мусора. Накомарник. Перчатки. Рукавицы. Резиновые сапоги. Утепленные сапоги.

Молоток, гвозди, отвертки, шило, плоскогубцы, кусачки, булавки.

Аптечка

Бинт стерильный - 6 шт. Термометр - 1 шт. Жгут резиновый - 1 шт. Английские булавки - 8 шт.

Пинцет. Ножницы. Пищевая сода. Вата стерильная. Мазь Вишневского. Спирт нашатырный. Настойка йода 5%. Борная кислота 2%. Активированный уголь. Нафтизин. Ацетилсалициловая кислота. Борный вазелин. Синтомициновая эмульсия. Лейкопластырь. Перцовый пластырь. Бриллиантовая зелень. Перекись водорода 2%.

Средство от простуды и лихорадки: фервекс, колдрекс.

Средство от ангины, ОРВИ: стрептоцид, флемоксин.

Обезболивающие средства: парацетомол, аспирин, спазмалгон, анальгин.

Препараты против диареи: имодиум, энтеросептол, диарол, левомицитин.

Препараты от болей в животе: фестал, мезим, ношпа.

Средство от запоров: гуталакс, координакс.

Противоаллергические препараты: кларитин, телфаст, супрастин.

Сердечные препараты: корвалол, валокордин, валерьянка.

Противогрибковые препараты: микозолон, ламизил

Препараты от кашля: бромгексин, антрагент

Обеззараживающие: фурацилин, сода, перманганат калия

Личные вещи (примерный перечень)

Спальник. Коврик. Рюкзак. Куртка. Свитер. Дождевик. Сидушка. 2 пары брюк. 2 пары рубашек. Футболка. Шляпа. Шапка. Спортивный костюм. Шорты. Купальник. Ботинки туристические. Кроссовки. Тапочки. Носки шерстяные и простые. Посуда (кружка, ложка, нож, миска, фляжка). Крем для рук и лица. Нитки. Иголки. Мыло. Зубная паста. Полотенце. Зубная щетка.

Продукты

Примерная норма питания на одного человека в сутки: хлеб - 500 г, сухари - 250 г, крупы - 250 г, макаронные изделия - 50 г, сливочное, топленое и растительное масло - 30 г, мясопродукты - 100 г, картофель - 100 г, молоко сухое - 50 г, молоко сгущенное - 50 г, сахар - 100 г, Конфеты - 100 г, Сало - 50 г, рыбопродукты - 50 г, яичный порошок - 5 г, сыр, творог - 50 г, сухофрукты, кисели - 30 г, кофе - 5 г, чай - 5 г, соль - 10 г, специи (перец, лавровый лист, томатная паста, лук, чеснок, крахмал и другие) - 50 г..

Примерный список продуктов: Крупы: рис, гречка, овсянка. Макароны. Мука. Хлеб. Сухари. Сушки. Тушенка. Бульонные кубики. Сухие наборы для супа. Борщ в банке. Яичный порошок. Паштеты. Рыбные консервы. Сыр. Сахар песок. Сахар - рафинад. Курага. Изюм. Чай. Кофе. Конфеты. Печенье. Повидло. Джем. Мед. Картошка. Овощи. Масло. Растительное масло. Молоко концентрированное. Сгущенное молоко. Сухое молоко. Соль. Специи. Чеснок. Лук. Соусы. Кетчуп. Конфеты в коробках. Вода питьевая в бутылках.

Для заметок

Намсараев Б.Б., Бархутова Д.Д., Хахинов В.В.

**ПОЛЕВОЙ ПРАКТИКУМ
ПО ВОДНОЙ МИКРОБИОЛОГИИ И ГИДРОХИМИИ**

Методическое пособие для научных сотрудников, аспирантов и
студентов

Редактор И.Х.Оширова

Свидетельство РПУ-У №1020300970106 от 08.10.02

Формат 60 x 84 _{1/16}

Подписано в печать

Уч.-изд. л. Усл. печ. л.

Тираж 100 экз. Заказ

Издательство Бурятского госуниверситета,
670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24а