

Министерство общего и профессионального образования
Российской Федерации

Ростовский Государственный университет

Методические указания
к практикуму “Анализ объектов окружающей среды”
Определение биогенных элементов в природных водах
Часть 4

г. Ростов-на-Дону

2001 г.

Составители: член-корреспондент РАЕН, доктор химических наук, профессор А.Д. Семенов, кандидаты химических наук, доцент М.М. Евстифеев, доцент Ю.М. Гаврилко.

Ответственный редактор: кандидат химических наук, доцент Е.М. Цыганков.

Печатается по решению кафедры аналитической химии химического факультета.

Протокол № 1 от 2 февраля 2001 г.

Методические указания предназначены для студентов старших курсов дневного и вечернего отделений химического факультета, изучающих спецкурс “Анализ объектов окружающей среды” и специализирующихся на кафедре аналитической химии по специальностям “Аналитическая химия” и “Химия объектов окружающей среды”. Настоящие методические указания рекомендуются к использованию при проведении экологоаналитической практики студентами второго курса дневного отделения химфака..

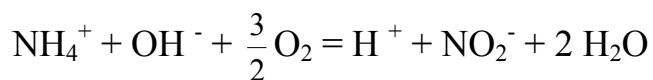
1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ БИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ

К биогенным элементам, т.е. элементам, жизненно необходимым для биологической продуктивности водоема, прежде всего относят кремний, азот, фосфор.

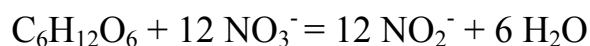
В настоящей методичке рассматриваются методы определения в воде нитритного азота, нитратного азота и фосфора в виде фосфат-иона, т.е. форм, определение которых предусмотрено прежде всего ГОСТом.

1.1. НИТРИТЫ

Источники. Присутствие в незагрязненных поверхностных водах нитритных ионов связано главным образом с процессами минерализации органических веществ и нитрификации. Аммонийные ионы под действием особого вида бактерий окисляются до нитритных ионов:



Другой процесс образования нитритных ионов в водоемах - денитрификация:



Восстанавливать нитраты может довольно большое количество бактерий, и этот процесс должен быть неотъемлемой частью широкого геохимического цикла азота.

Формы миграции. В поверхностных водах нитритный азот находится главным образом в виде нитритных ионов. В кислых водах может присутствовать некоторое количество HNO_2 . Нитриты не обладают сильно выраженной способностью к комплексообразованию.

Содержание в поверхностных водах. Нитриты - неустойчивые компоненты природных вод. Поэтому при благоприятных для их окисления условиях, характерных для поверхностных вод, они встречаются в незначительных количествах (сотые и даже тысячные доли миллиграмма в литре).

В морских водах содержание нитритов не превышает 10 мг N/м^3 .

Свойства, цели наблюдения. Повышенное содержание нитритов указывает на усиление процессов разложения органических остатков в условиях более медленного окисления NO_2^- до NO_3^- , что указывает на загрязнение водоема, т.е. является важным санитарным показателем. Кроме целей оценки качества вод, информация о распределении и изменении концентрации нитритов представляет интерес при изучении процессов самоочищения водоемов, а также в гидробиологических и микробиологических исследованиях.

Методы определения. Реакция взаимодействия диазонитрованной в присутствии нитритов сульфаниловой кислоты с ароматическими аминами является одной из самых чувствительных реакций, с помощью которых могут быть обнаружены очень малые (единицы мкг/л) количества нитритных ионов.

Отбор, предварительная обработка, хранение проб. Нитритные ионы - неустойчивые вещества, определение которых должно производиться вскоре после отбора. Пробы предварительно фильтруют через мембранный фильтр $0,45 \text{ мкм}$. Если анализ не может быть выполнен немедленно, пробу консервируют добавлением 2-4 мл хлороформа на 1 л воды и хранят при температуре $3-5^\circ \text{C}$ в течение 1-3 суток.

1.1.1. ФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД С РЕАКТИВОМ ГРИССА

Назначение метода. Метод применим для определения нитритов в поверхностных водах с содержанием от 0,007 до 0,35 мг N/л.

Принцип метода. Метод основан на способности первичных ароматических аминов в присутствии азотистой кислоты давать интенсивно окрашенные диазосоединения. Оптическую плотность образованного диазосоединения определяют при $\lambda=536$ нм. Линейная зависимость между оптической плотностью растворов и концентрацией нитритов сохраняется в пределах от 0,007 до 0,350 мг N/л.

Характеристики метода. Минимальная определяемая концентрация 0,007 мг N/л. Относительное стандартное отклонение U при концентрациях от 0,080 до 0,300 мг N/л составляет 2% ($n=30$), при концентрациях $< 0,080$ мг N/л - 10%. продолжительность определения единичной пробы 50 мин.

Мешающие влияния. Определению мешают сильные окислители и восстановители в концентрациях, редко встречающихся в природных водах.

Ход определения. 50 мл исследуемой пробы помещают в коническую колбу на 100 мл, добавляют около 0,1 г сухого реактива Грисса (на кончике скальпеля) или 2,5 мл его раствора и тщательно перемешивают. Через 40 мин. (по секундомеру) измеряют оптическую плотность раствора на фотоэлектроколориметре (зеленый светофильтр) в кюветах с толщиной слоя 1 см против дистиллированной воды. При низких концентрациях нитритов (0,007-0,05 мг N/л) целесообразно использовать кювету с толщиной слоя 5 см (в этом случае при построении калибровочной кривой также используют кюветы с толщиной слоя 5 см). Одновременно производят определение оптической плотности исследуемой пробы воды без добавления реактивов. Ее значение вычитают из оптической плотности пробы. Содержание нитритов в мг N/л находят по калибровочной кривой.

Построение калибровочной кривой. В мерные колбы емкостью 50 мл приливают 0; 0,1; 0,2; 0,4; 0,8; 1,0; 1,5; 2,0; 3,0 мл рабочего раствора и доводят объем до метки дистиллированной водой. Концентрации этих растворов соответственно равны: 0; 0,01; 0,02; 0,04; 0,08; 0,10; 0,15; 0,20; 0,30 мг

N/л. Производят определение, как описано выше. Оптическую плотность растворов измеряют против дистиллированной воды. Строят калибровочную кривую, откладывая по оси абсцисс концентрацию нитритов в мг N/л, по оси ординат - оптическую плотность.

Расчет. содержание нитритов C_x в мг N/л рассчитывают по формуле

$$C_x = C \cdot n,$$

где C - концентрация нитритов, найденная по калибровочной кривой в мг N/л; n - степень разбавления исходной пробы воды (в случае. если исследуемую пробу не разбавляют, $n = 1$; если взято 10 мл и разбавлено до 50 мл, $n = 5$ и т.д.)

Реактивы.

1. Реактив Грисса. Сухой готовый реактив Грисса, х.ч., предварительно растертый в ступке до однородной массы.

2. Стандартные растворы азотнокислого натрия NaNO_2 , х.ч.:

а) запасной стандартный раствор 250 мг мг N/л. 0,6157 г высушенного при 110°C и охлажденного в эксикаторе над хлористым кальцием нитрита натрия растворяют в мерной колбе на 500 мл дистиллированной водой. Хранят при температуре $3-5^\circ \text{C}$ в течение нескольких недель.

б) рабочий стандартный раствор, 5 мг N/л. 5 мл запасного стандартного раствора разбавляют в мерной колбе на 250 мл дистиллированной водой. Готовят перед употреблением.

Аппаратура. Спектрофотометр или фотоэлектроколориметр (зеленый светофильтр, $\lambda=536 \text{ нм}$).

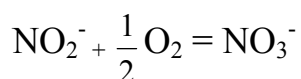
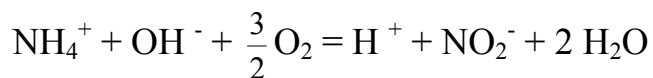
Посуда.

1. Колбы мерные: 500 мл - 1 шт.;
250 мл - 1 шт.;
200 мл - 1 шт.;
50 мл - 10 шт.

2. Колбы конические: 100 мл - 10 шт.
3. Пипетки: 1 мл - 1 шт.;
2 мл - 1 шт.;
5 мл - 2 шт.
4. Скрепки для реактивов: 4 шт.
5. Цилиндры: 25 мл - 1 шт.;
200 мл - 2 шт.
6. Скальпель: 1 шт.

1.2. НИТРАТЫ

Источники. Присутствие нитратных ионов в поверхностных водах связано главным образом с внутриводоемными процессами, в первую очередь с процессом нитрификации - окислением аммонийных ионов в присутствии кислорода под действием нитрифицирующих бактерий



Увеличение концентрации нитратных ионов наблюдается поэтому в летнее время в период массового отмирания фитопланктона и высокой активности нитрификаторов.

Другим важным источником обогащения поверхностных вод нитратами являются образующиеся при атмосферных электрических разрядах окислы азота, которые после поглощения атмосферными водами попадают на земную поверхность. Содержание нитратов в атмосферных осадках достигает нередко 1 мг N/л.

Большое количество нитратов может поступать с промышленными и бытовыми сточными водами, особенно со стоками после биологической очистки воды, где их концентрация может повышаться до 50 мг N/л.

Формы миграции. В поверхностных водах нитратный азот находится в растворенной форме в виде нитратных ионов. Нитраты обладают слабой комплексообразующей способностью.

Содержание в поверхностных водах. В незагрязненных поверхностных водах концентрация нитратных ионов составляет $n \cdot 10^{-3}$ - $n \cdot 10^{-2}$ мг N/л.

В морских водах среди минеральных форм азота преобладают нитратные ионы, их концентрация достигает в среднем 0,4-0,5 мг N/л.

Свойства, цели наблюдения. Повышенное содержание нитратов указывает на ухудшение санитарного состояния водоема. Амплитуда сезонных колебаний может служить одним из показателей эвтрофикации водоема и степени его загрязненности органическими азотсодержащими веществами, поступающими с бытовыми и сельскохозяйственными сточными водами. Если концентрация аммонийных ионов в водоеме может быть использована в качестве одного из показателей “свежего” загрязнения, то повышенное содержание нитратов указывает на загрязнение в прошлом.

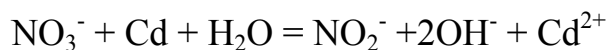
Метод определения. Для определения нитратов в поверхностных водах рекомендуется метод восстановления нитратов металлическим кадмием до нитритов с последующим спектрофотометрированием окрашенных растворов образующихся нитритных ионов с реактивом Грисса.

Отбор, предварительная обработка и хранение проб. Пробу воды объемом 150 мл фильтруют через мембранный фильтр 0,45 мкм. Так как нитраты во времени неустойчивы, их необходимо определять сразу же после отбора пробы. Если анализ не может быть выполнен немедленно, пробу консервируют 2-4 мл хлороформа на 1 литр воды и хранят при температуре 3-5° С не более 1-3 суток.

1.2.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ НИТРАТОВ ВОССТАНОВЛЕНИЕМ ДО НИТРИТОВ

Назначение метода. Метод предназначен для определения нитратов в поверхностных водах с содержанием 0,01-0,35 мг N/л. В случае более высоких концентраций нитратов пробу перед определением необходимо разбавить дважды дистиллированной водой.

Принцип метода. Метод основан на восстановлении нитратов металлическим кадмием



и последующем определении образующихся нитритов с реактивом Грисса. Эффективность кадмия как восстановителя значительно возрастает, если он предварительно обработан раствором соли меди. Восстановленная при этом медь оседает на поверхности кадмия, образуя с ним гальваническую пару. Степень восстановления нитратов зависит от pH раствора и максимальна при pH=9,6. Продолжительность работы кадмиевого редулятора достаточно велика - несколько сотен проб.

Оптическую плотность растворов нитритов определяют при $\lambda=536$ нм. Линейная зависимость между оптической плотностью и концентрацией нитратов сохраняется в пределах 0,010-0,35 мг N/л.

Характеристики метода. Минимальная определяемая концентрация 0,010 мг N/л. Относительное стандартное отклонение U при концентрациях от 0,100 до 0,300 мг N/л составляет 5,0% (n=30). Продолжительность определения единичной пробы 1 ч.

Ход определения. Для анализа отбирают две порции исследуемой воды: 25 мл и 100 мл. В первой из них определяют нитриты, а во второй восстанавливают нитраты до нитритов.

Для этого к 100 мл анализируемой воды, помещенным в колбу или стакан на 250 мл, прибавляют 2 мл хлорида аммония. Содержимое колбы перемешивают и пропускают через кадмиевый редулятор со скоростью 8-10

мл/мин по секундомеру. Первые 70 мл пробы, прошедшие через редуктор, отбрасывают, последующие 25 мл отбирают в отдельный приемник и сразу добавляют около 10 мг сухого реактива Грисса (на кончике скальпеля). Смесь перемешивают и через 40 мин измеряют оптическую плотность раствора на фотоколориметре (зеленый светофильтр) в кюветах с толщиной слоя 1 см против дистиллированной воды. При низких концентрациях нитратов (0,010-0,100 мг N/л) целесообразно использовать кюветы с толщиной слоя 5 см (в этом случае при построении калибровочной кривой также используют кюветы с толщиной слоя 5 см).

Содержание нитратов в мг N/л находят по калибровочной кривой.

Построение калибровочной кривой. Для построения калибровочной кривой в мерные колбы емкостью 100 мл приливают 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0 мл рабочего стандартного раствора и доводят объем до метки дистиллированной водой. Концентрации этих растворов соответственно равны: 0; 0,025; 0,050; 0,10; 0,15; 0,20; 0,30 мг N/л. Производят определение, как описано выше. Строят калибровочную кривую, откладывая по оси абсцисс концентрацию нитратов в мг N/л, на оси ординат - оптическую плотность.

Расчет. Содержание нитратов C_x в мг N/л рассчитывают по формуле

$$C_x = C \cdot n - C_1,$$

где C - концентрация (мг N/л) нитратов и нитритов в растворе, пропущенном через редуктор. Последнюю находят по калибровочной кривой для нитратов; n - степень разбавления исходной пробы воды (в случае. если исследуемую пробу не разбавляют, $n = 1$; если взято 10 мл и разбавлено до 50 мл, $n = 5$ и т.д.); C_1 - концентрация нитритов в исследуемой воде, найденная по калибровочной кривой для нитритов, мг N/л.

Реактивы.

1. Раствор хлорида аммония NH_4Cl , х.ч. 175 мг хлорида аммония растворяют в дистиллированной воде и объем раствора доводят водой до 500 мл. Устойчив в течение нескольких месяцев.

2. Раствор сульфата меди $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, х.ч. 20 г сульфата меди растворяют в дистиллированной воде и объем раствора доводят до 1 л. Готовят перед употреблением.

3. Кадмий металлический омедненный, 99,9%-ный.

4. Реактив Грисса, х.ч. Готовый сухой реактив перед употреблением растирают в ступке.

5. Стандартные растворы нитрата калия:

а) запасной стандартный раствор, 250 мг N/л. 0,902 г высушенного при 100°C и охлажденного в эксикаторе над хлоридом кальция химически чистого KNO_3 растворяют в дистиллированной воде и объем раствора доводят до 500 мл;

б) рабочий стандартный раствор, 5 мг N/л. 5 мл запасного стандартного раствора разбавляют дистиллированной водой до 250 мл.

Аппаратура.

1. Фотоэлектроколориметр (зеленый светофильтр) - 1 шт.

2. Секундомер - 1 шт.

Посуда.

1. Кадмиевый редуكتور.

2. Колбы мерные: 500 мл - 3 шт.;

200 мл - 1 шт.;

100 мл - 10 шт.;

25 мл - 2 шт.

3. Колбы конические: 100 мл или 50 мл - 10 шт.;

250 мл - 5 шт.

4. Цилиндры: 100 мл - 2 шт.;

50 мл - 2 шт.

5. Пипетки: 1 мл - 2 шт.;

2 мл - 2 шт.;

5 мл - 2 шт.;

10 мл - 2 шт.

6. Стаканы: 500 мл - 3 шт.

7. Скальпель: 1 шт.

8. Стеклопалочки: 2 шт.

1.3. ФОСФАТЫ

Фосфор является одним из главных биогенных элементов, определяющих продуктивность водоема. Соединения фосфора встречаются во всех живых организмах и регулируют энергетические процессы клеточного обмена.

Источники. Соединения фосфора поступают в поверхностные воды в результате процессов жизнедеятельности и посмертного распада водных организмов, выветривания и растворения пород, содержащих ортофосфаты, обмена с донными осадками, поступления с поверхности водосбора.

Важным фактором повышения содержания фосфора в поверхностных водах, нередко приводящим к значительной эвтрофикации водоема, является хозяйственная деятельность человека. Загрязнению поверхностных вод фосфором способствует широкое применение фосфорных удобрений, полифосфатов как моющих средств, флотореагентов и умягчителей воды. Органические и минеральные соединения фосфора образуются при биологической переработке бытовых сточных вод и пищевых остатков, а также в процессах биологической очистки промстоков.

Формы миграции. В природных водах соединения фосфора находятся в растворенном, коллоидном и взвешенном состояниях. Под влиянием химических и биологических факторов относительно легко осуществляются переходы из одной формы в другую, что важно учитывать при анализе.

Растворенный фосфор представляет собой неорганические - орто-, пиро-, мета- и полифосфаты и органические фосфаты.

1.3.1. ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОСФАТОВ

Отбор, предварительная обработка и хранение проб. Фосфаты являются биохимически подвижными компонентами, определение которых следует производить в свежееотобранных пробах. Если анализ не может быть выполнен немедленно, пробы фильтруют через мембранный фильтр 0,45 мкм, добавляют 2-4 мл хлороформа на 1 л воды и хранят при температуре 3-5° С не более 3 суток.

Назначение метода. Метод основан на взаимодействии фосфатов с молибдатом в кислой среде с образованием фосфорно-молибденовой гетерополикислоты $H_7[P(Mo_2O_7)_6] \cdot 28H_2O$ восстановлением ее аскорбиновой кислотой в присутствии сурьмяно-виннокислого калия до фосфорно-молибденового комплекса, окрашенного в голубой цвет.

Характеристики метода. Минимально определяемая концентрация 0,005 мг Р/л. Относительное стандартное отклонение U при концентрации 0,06 мг Р/л составляет 1,5% ($n=20$). Продолжительность определения единичной пробы 40 мин.

Ход определения. 50 мл исследуемой пробы воды отбирают пипеткой в колбу на 100 мл, добавляют 10 мл смешанного реактива и раствор перемешивают. Через 10 мин измеряют его оптическую плотность на фотоколориметре (красный светофильтр) в кюветах с толщиной слоя 5 см против дистиллированной воды. Из найденной величины вычитают значение оптической плотности при холостом опыте. Если исследуемая вода окрашенная или слегка мутная, отдельно измеряют против дистиллированной воды ее оптическую плотность при $\lambda=882$ нм и вычитают из результата.

Содержание фосфатов в мг Р/л определяют по калибровочной кривой.

Построение калибровочной кривой. В мерные колбы емкостью 50 мл отбирают пипеткой 0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0; 5,0; 7,5; 10 мл рабочего раствора фосфата калия и объем доводят до метки дважды дистиллированной водой. В полученном ряду стандартных растворов фосфатов с концентрациями 0; 0,01; 0,02; 0,04; 0,08; 0,10; 0,15; 0,20 мг Р/л производят определения, как описано выше.

Оптическую плотность холостого опыта вычитают из оптической плотности стандартных растворов. Строят калибровочную кривую, откладывая по оси абсцисс концентрацию фосфатов в мг Р/л, по оси ординат - оптическую плотность.

Расчет. Содержание фосфатов C_x в мг Р/л находят по формуле

$$C_x = C_0 \cdot n,$$

где C_0 - концентрация фосфора, найденная по калибровочной кривой, мг/л; n - степень разбавления исходной пробы воды (в случае, если исследуемую пробу не разбавляют, $n = 1$; если взято 10 мл и разбавлено до 50 мл, $n = 5$ и т.д.);

Реактивы.

1. стандартные растворы фосфата KH_2PO_4 , х.ч.;

а) основной стандартный раствор, 0,04 мг Р/мл. 0,1757 г KH_2PO_4 предварительно высушенного в течение 2 ч при температуре 105°C и охлажденного в эксикаторе над CaCl_2 , растворяют в дистиллированной воде и добавляют 2 мл хлороформа. Объем доводят до 1 л дистиллированной водой;

б) рабочий стандартный раствор 0,001 мг Р/мл. 5 мл основного стандартного раствора растворяют в 200 мл дистиллированной воды.

2. Раствор серной кислоты H_2SO_4 , х.ч., 5 н. 70 мл концентрированной серной кислоты х.ч. ($d=1,84$) приливают к 400 мл дистиллированной воды. Объем раствора доводят до 500 мл.

3. Раствор молибдата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, х.ч. 20 г. молибдата аммония растворяют в 500 мл дистиллированной воды. В случае присутствия мути раствор следует отфильтровать.

4. Раствор аскорбиновой кислоты $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$, х.ч. или ч.д.а., 0,1 М. 1,32 г аскорбиновой кислоты растворяют в 75 мл воды. Раствор готовят в день определения.

5. Раствор сурьмяно-виннокислого калия $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$, х.ч. 0,2742 г сурьмяно-виннокислого калия растворяют в дважды дистиллированной воде и разбавляют до 100 мл.

6. Смешанный реактив. 125 мл 5 н. раствора серной кислоты смешивают с 37,5 мл раствора молибдата аммония, добавляют 75 мл раствора аскорбиновой кислоты и 12,5 мл раствора сурьмяно-виннокислого калия. Этот реактив можно хранить не более 24 ч.

Аппаратура. Фотоэлектроколориметр (красный светофильтр).

Посуда.

1. Колбы мерные с притертой пробкой: 1 л - 1 шт.;
200 мл - 1 шт.;
50 мл - 1 шт.
2. Колбы плоскодонные: 100 мл - 15 шт.
3. Цилиндры мерные с притертыми пробками: 250 мл - 1 шт.;
500 мл - 1 шт.
4. Пипетки с делениями: 5 мл - 2 шт.;
10 мл - 2 шт.