



УКРАЇНА

U3)

JS 61/00, G 01_N_33/jj[.

ДЕРЖАВНЕ
ПАТЕНТНЕ
ВІДОМСТВО

ОПИС

НА ВИНАХІД

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ САМООЧИСНОЇ ЗДАТНОСТІ ВОДНОГО СЕРЕДОВИЩА

1

(20)94250605,21.05.93

(21)4912953/13

(22)19.02.91, SU

(46)28.12.94. Бюл. №7-1

(56) 1. Брагинский Л.П., Величко И.ГИ., Щербань Э.П. Пресноводный планктон в токсической среде. - Киев: Наук, дума, 1987.

2. Методы физиолого-биохимических исследований в гидробиологической практике. - Киев: Наук, думка. 1975, с. 226.

3. Вурмэнн К. Очищение речной воды (Микробиология загрязненных вод.. М.: Медицина, 1976, с. 111-135 (прототип).

(71) Інститут гідробіології АН УРСР

(72) Пасічний Олександр Прохорович, Мерещко Олексій Іванович, Величко Іван Михайлович, Сазонов Володимир Вікторович
(73) Інститут гідробіології АН України (UA)
(57) Способ определения самоочистительной способности водной среды, предусматривающий инкубацию фотосинтезирующего тест-объекта в светопроницаемой ячейке с контрольной и исследуемой водой при скачкообразном равнопериодическом чередовании светового и темнового периодов с восстановлением исходного уровня кислорода в средах к началу каждого периода, регистрацию значений фотосинтеза и дыхания в световой и темновой фазах, соответственно, сопоставление полученных опытных и контрольных данных и суждение о самоочистительной способности исследуемой среды по полученным данным, отличающийся тем, что в качестве тест-объекта используют зеленые нитчатые водоросли.

контрольная среда для инкубации тест-объекта содержит следующие ингредиенты:

KNO ₃		
MgSO ₄ · 7H ₂ O	-1,23-1,27 мг/л	-1,24-1,27 мг/л
Ca(NO ₃) ₂		
KH ₂ PO ₄ K ₂ CO ₃		- 4
лимонная кислота		9
железо		5
лимоннокислое		-
ЭДТА		5
раствор микроэлементов		0
вода		4

м

г/л
- 0,61-0,65 мг/л
- 1,69-1,74 мг/л
-0,38-0,41 мг/л
- 0,04-0,06 мг/л
-0,19-0,21 мг/л
-0,95-1,05 мг/л
до 1000 мл.,

при этом дополнительно рассчитывают коэффициент самоочистительной способности исследуемой среды по формуле:

$$\frac{\Phi_{и} \cdot Д}{Д_{и} \cdot \Phi_{к}} \quad \text{где}$$

Φ_и, Φ_к - фотосинтез водорослей в опыте и контроле,

Д_и, Д_к - дыхание водорослей в опыте и контроле, и значений коэффициента от 0,95 до 1,0% самоочистительную способность исследуемой среды считают нормальной, при значении от 0,75 до 0,94 - удовлетворительной, от 0,50 до 0,74 - пониженной, от 0,25 до 0,49 - неудовлетворительной, менее 0,24 - отсутствие самоочистительной способности исс-

ледуемой среды.

Изобретение относится к области экологии, в частности к способам определения

самоочистительной способности поверхностных вод и может быть использовано в гид-

робиологии и водной токсикологии, а также при санитарно-гигиеническом контроле сточных и природных вод.

Известен способ оценки качества водной среды с помощью определения продукции и деструкции планктона (1). Способ позволяет приближенно оценивать качество воды и степень ее токсичности, и имеет ряд недостатков:

а) громоздкость методики определения содержания кислорода в воде: 10

б) неприменимость его при высокой степени мутности и цветности воды;

в) необходимость громоздкого определения видового и количественного состава планктонных организмов, структуры популяций, что осложняет использование указанного способа в массовых масштабах; 15

г) способ позволяет производить оценку качества воды и степень токсичности, но не применим для определения самоочистительной способности водной среды. 20

Наиболее близким решением является способ определения самоочищения водной среды, основанный на определении снижения концентраций загрязнителя на определенном участке водотока при отсутствии дополнительного загрязнения между участками замеров (3) - прототип. 25

Однако указанный способ эффективен лишь в том случае, когда измеряемые концентрации однозначно показывают уменьшение количества загрязнителя в исследуемой воде в конкретных условиях, например, методом специальных добавок. Его использование в реальных условиях осложняется рядом факторов. 30 35

Во-первых, наличие неравномерности, мозаичности распределения загрязнителя по акватории, обусловленной неоднородностью потока воды (изменение скоростей течения, циркуляция, застойные зоны и т.д.). Даже учет указанных факторов не обеспечивает однозначного результата по определению самоочистительной способности водной среды. 40 45

Во-вторых, постоянное поступление в водоток извне на протяжении всего течения органических и минеральных веществ аллохтонного происхождения, а также внутриводоемное образование органических веществ автохтонного происхождения, т.е. в результате фотосинтетической деятельности гидрофитов (первичная продукция). Поэтому в реке обычно наблюдается не снижение концентрации органических веществ в воде, а сохранение на предыдущем уровне или даже некоторое увеличение. А 50

это значительно снижает достоверность оценки самоочистительной способности водной среды.

В-третьих, широкий молекулярный спектр загрязнителей, среди которых существует большой набор ксенобиотиков, практически препятствует использованию указанного способа. Возникает необходимость определения многих гидрохимических показателей, по разному взаимодействующих с биотическими и абиотическими факторами и неадекватно подвигающиеся процессам самоочищения водной среды.

В основу изобретения поставлена задача создания способа определения самоочистительной способности водной среды с использованием в качестве тест-объекта зеленой нитчатой водоросли с расчетом коэффициента самоочистительной способности исследуемой воды путем сравнения с контролем фотосинтеза и дыхания растений, находящихся в исследуемой и контрольной средах, благодаря чему расширяется диапазон оценки самоочистительной способности водной среды, повышается экспрессность и надежность способа, а также достоверность результатов.

Поставленная задача решается тем, что в способе, предусматривающем инкубацию фотосинтезирующего тест-объекта в светопроницаемой ячейке с контрольной и исследуемой водой при скачкообразном равнопериодическом чередовании светового и темнового периодов с восстановлением исходного уровня кислорода в средах к началу каждого периода, регистрацию значений фотосинтеза и дыхания в световой и темновой фазах соответственно, сопоставление полученных опытных и контрольных данных и суждение о самоочистительной способности исследуемой среды по полученным данным согласно изобретению вводится в качестве тест-объекта использование зеленой нитчатой водоросли, контрольная среда для инкубации тест-объекта содержит следующие ингредиенты:

KNO ₃	- 1
MgSO ₄ •7H ₂ O	, 2
KH ₂ PO ₄	3
K ₂ CO ₃	-
лимонная кислота	1
железо лимоннокислое	, 2
ЭДТА	7
	М
г/л	
- 1,24-1,27 мг/л	
- 4,95-5,04 мг/л	
- 0,61-0,65 мг/л	

- 1.69-1,74
мг/л

-0,38-0.41 мг/л

- 0,04-0,06
мг/л
-0,19-0,21
мг/л

раствор
микроэлементов - 0,95-1,05 мг/л
вода до 1000 мл.

При этом дополнительно рассчитывают коэффициент самоочистительной способности 5 исследуемой среды по формуле:

$$Ди \cdot Фк$$

10 где

Фи, Фк - фотосинтез водорослей в опыте и контроле; Ди, Дк - дыхание водорослей в опыте и контроле и при значении коэффициента от 0,95 до 1,0 самоочистительную способность 15 исследуемой среды считают нормальной, при значении 0,73-0,94 - удовлетворительной 0,40-0,74 - пониженной, 0,25-0,49 - неудовлетворительной, менее 0,24 - отсутствие самоочистительной способности исследуемой среды. 20

Принцип предлагаемого способа состоит в том, что самоочистительная способность водной среды предопределяется тремя моментами.

Во-первых, следует учитывать, что в любой водной среде даже в наиболее загрязненных водоемах и их участках, происходит самоочищение воды.

Во-вторых, самоочистительная способность связана с продукционно-деструкционным процессом, который обеспечивает круговорот веществ в водоеме, функционирование трофической цепи, первичными продуцентами в которой являются растительные организмы. Поэтому определение их продукционно-деструкционных характеристик может быть использовано для оценки самоочистительной способности водной среды. 35

В-третьих, угнетение продукционного процесса и понижение самоочистительной способности водной среды происходит вследствие токсичности компонентов загрязнений - тяжелых металлов, пестицидов, 45 поверхностно-активных веществ, биогенных элементов при их высокой концентрации или несбалансированности. Обычные растворимые органические вещества могут тоже оказывать токсическое воздействие на биоту вследствие происходящих в воде процессов их свободно-радикального окисления. 50

Основные преимущества заявляемого способа перед известным заключается в следующем: 55

1. Возможность определения реальной самоочистительной способности водной среды во всех случаях, даже если количество

загрязнителей в направлении от истока к устью возрастает вследствие антропогенного загрязнения и поступления органических веществ аллохтонного и автохтонного происхождения.

2 При использовании предлагаемого способа необходима регистрация изменения лишь одного показателя - содержание кислорода в водной среде, что упрощает применение предлагаемого способа и повышает его экспрессность.

3. Предлагаемый способ дает возможность начинать регистрацию содержания кислорода при определении интенсивности фотосинтеза и дыхания в эталонной контрольной среде и в пробах воды из различных водоемов с одного и того же уровня - 100%-ного кислородного насыщения, что повышает надежность и стабильность способа.

4. Для повышения надежности способа и достоверности получаемых результатов используется в качестве контроля разработанная авторами эталонная среда. В качестве эталонной среды используется модифицированная искусственная среда Успенского № 1 (2).

Цельная среда Успенского № 1

KNO ₃	25 мг/л
MgSO ₄ · 7H ₂ O	25 мг/г
Ca(NO ₃) ₂	100 мг/л
KH ₂ PO ₄	25 мг/л

Среда Успенского № 1 34.5 мг/л

разбавляется в 18-20 раз, что позволяет снизить концентрацию биогенных элементов до уровня, соответствующего средневодоемному. При этом соотношение их остается сбалансированным, оптимальным для водных растений. В среду Успенского № 1 добавляется также ряд новых компонентов и модифицированная среда Успенского № 1 приобретает такой вид:

KNO ₃	1.23-1,27 мг/л
MgSO ₄ · 7H ₂ O	1,24-1,27 мг/л
Ca(NO ₃) ₂	4,95-5.04 мг/л
KH ₂ PO ₄	0,61-0,65 мг/л
K ₂ CO ₃	1.69-1,74 мг/л

лимонная кислота	
железо	0.36-0.41 мг/л

лимонное	
ЭДТА	0,04-0,06 м/л

раствор микроэлементов	0.190 : ± ? *-/л
------------------------	------------------

Модификация среды

была для достижения двух 0.95-1,0 мг/л задач. Во-первых, ведены основные микроэлементы в соотноше-

ний. близком общепринятым прописям, но в концентрации на порядок ниже, то есть в пределах ПДК. Во-вторых, введены лимонная кислота и трилон Б (ЭДТА) для хелатирования ионов металлов. Раствор микроэлементов, добавляемых в среду содержит соединения микроэлементов в следующих концентрациях:

H ₃ BO ₃	28-32 мг/л	10
MnSO ₄ · H ₂ O	19-21 мг/л	
ZnSCM · 7H ₂ O	2-4 мг/л	
CuSO ₄ · 5H ₂ O	1-3 мг/л	
Co(BO ₃) ₂ · 4H ₂ O	0.5-1,5 мг/л	

Приготовленная таким образом эталонная среда отвечает следующим требованиям:

а) содержание биогенных элементов и микроэлементов сбалансировано соответственно потребностям макро- и микрофитов;

б) концентрация их соответствует природному уровню;

в) ионы металлов хеллатонизированы добавкой органических лигандов для устранения токсического воздействия на гидробионтов;

г) все показатели среды соответствуют нормам санитарно-бытового и питьевого, рыбохозяйственного и ирригационного водопользования, находясь в пределах ПДК.

Кроме того на основании массовых полевых исследований (300 проб из различных регионов Украины) доказано, что в более чем 95% случаев продукция тестированных гидрофитов в эталонной среде превышает или равна продукции в исследуемой природной воде. Это значит, что указанная модифицированная искусственная среда действительно может служить эталоном для определения самоочистительной способности природной воды с 95%-ным доверительным интервалом.

Для непосредственного измерения газообменной функции водных растительных организмов по данному способу используется термолюминостат, в который помещен сосуд с водой, температура которой поддерживается на уровне оптимума для гидрофитов (20±2°), кислородомер любого образца, компрессор для продувки эталонной среды и образцов исследуемой воды с находящимися в них растительными организмами с целью доведения содержания кислорода до уровня 100%-ного насыщения как перед световым, так и перед темновым периодом.

В качестве тест-объекта используют зеленые нитчатые водоросли, предпочтительно массовый вид *Cladophora fracta*. Использование фитопланктона нецелесообразно, так как анализ его качественного и количественного состава громоздок и в разных пробах воды он будет существенно отличаться, создавая неравноценные и несравнимые условия, что усложняет применение способа. Погруженные водные растения содержат листья, стебли, корни и репродуктивные органы и достичь однородности посевного материала невозможно, что будет искажать получаемые результаты.

Нитчатые водоросли представляют собой однородную массу и позволяют получать достоверные результаты и поэтому наиболее приемлемы для тестирования.

Способ осуществляется следующим образом.

Навески зеленых нитчатых водорослей вносят в колбы с эталонной водной средой (контроль) и с отобранными пробами воды из исследуемых ВО/1ПР-9 из расчета 0,5-0,6 г/л и помещают в термолюминостат с температурой 20°±2° и мощностью прямоугольного импульса света в пределах 100-300 Вт/м². После получасовой продувки с помощью компрессора уровень кислородного насыщения стабилизируется на уровне 100%. После этого компрессор отключается и после 1-часовой световой экспозиции регистрируется изменение содержания кислорода (Ф). Затем после следующей получасовой продувки водоросли на протяжении 1 часа экспонируются в темноте (Д). Полученные результаты используют для определения самоочистительной способности водной среды, индекса К, который рассчитывается на основании показателей продукционно-деструкционных процессов, т.е. интенсивности фотосинтеза (Ф) и дыхания (Д) в контрольной (эталонной) среде и исследуемой пробе воды

$$K = \frac{\Phi_{\text{и}} / D_{\text{и}} - \Phi_{\text{и}}' / D_{\text{к}}}{D_{\text{и}} \cdot \Phi_{\text{к}}'}$$

где $\Phi_{\text{и}}$, $D_{\text{и}}$, $\Phi_{\text{к}}$, $D_{\text{к}}$ обозначают фотосинтез и дыхание в используемой и контрольной пробах воды. ПРИМЕР:

По описанной выше методике проводились исследования проб воды на самоочистительную способность - водопроводной, сточной воды со станции нейтрализации ИГБ АН Украины, из реки Тетерев, реки Рось

и реки Самары, в последней пробы отобраны у истока и в устье. Полученные результаты приведены в таблице 1.

Индекс самоочистительной способности воды *K* обоснован на основании физиологического состояния тест-объекта - зеленых нитчатых водорослей во взаимосвязи с динамикой изменения концентраций загрязнителей в инкубационной среде. Фотосинтез и дыхание используются в качестве информационных параметров, а в качестве регуляторов, ограничивающих самоочистительную способность водной среды - токсиканты (тяжелые металлы, пестициды, биогенные вещества). Для учета поглощения из воды органических растворимых веществ в эталонную среду добавляли аланин (4 мг/л), по исчезновению которого судили о самоочистительной способности водной среды. Индекс самоочистительной способности одновременно испытываемой и эталонной воды, т.е. критерий *K* равен 1. В такой воде наблюдается снижение содержания аланина (на 0,91 мг/л.ч). При внесении в среду токсикантов (например меди) одновременно снижались критерий *K* и скорость убывания из инкубационной среды органического вещества. При значительной токсикации у тест-объекта фотосинтез прекращается, а снижение содержания аланина в воде практически отсутствует (0,08 мг/л.ч). Это же наблюдается при токсическом воздействии пестицидов. Наличие корреляции между критерием *K* и снижением содержания растворимых органических веществ (аланина), равного 0,97-0,99 при достоверности выше 99%, свидетельствует об идентичности критерия *K* и самоочистительной способности водной среды. Только при высокой фотосинтетической активности тест-объект способен к поглощению и минерализации растворимых органических веществ, а также к поглощению тяжелых металлов, детоксикации пестицидов, усвоению компонентов удобрений, чем характеризуется самоочистительная способность водной среды с помощью критерия *K*.

Применение заявляемого способа позволяет определить реальную самоочистительную способность водной среды во всех случаях, повысить экспрессность способа и упростить его применение, повысить надежность и достоверность получаемых результатов.

Контролируемая вода	Ф, мг О/л.ч	Д, мг О / л.ч	Ф/Д	К
Эталонная среда	5,80	1,70	3,41	1,00
Водопроводная ГОСТ 2874-82	5,71	1,89	3,01	0,88
Сточная со стоками* и нейтрализации				
ИГБ АН Украины	0,30	2,29	0,131	0,04
из р. Тетерев	2,67	1,25	2,14	0,83
из р. Рось	1,89	0,63	3,00	0,88
из р. Самары, исток	0,62	0,33	1,88	0,43
из р. Самары, устье	0,48	0,42	1,14	0,34

Примечание: На основании полученных данных определены уровни самоочистительной способности водной среды:

Индекс *K* Самоочистительная способность водной среды норма

0,95-1,05 удовлетворительная

0,75-0,94 слабая, свидетельствует о наличии токсических веществ в пределах

0,50-0,74 допустимых санитарными нормами концентраций неудовлетворительная, концентрации токсикантов превышают ПДК в 2-5 раз

0,25-0,49 самоочистительная способность практически отсутствует, высокая

0,00-0,24 концентрация токсикантов, деградация гидробиоценозое.

Упорядник В Романенко Техред М Моргентал

Коректор О Гуси

Замовлення 607

Тираж

Підписне

Державне патентне відомство України,
254655, ГСП, Київ-53, Львівська пл . 8

Виробничо-видавничий комбінат "Патент" м Ужгород вул Гагаріна 101