

ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА МОКРОГО СЖИГАНИЯ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ ВЗВЕШЕННЫХ ОРГАНИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ В МОРСКОЙ ВОДЕ

© 2016 г. В. Я. Бергер¹, М. В. Митяев², А. А. Сухотин^{1,3}

¹Зоологический институт РАН, Санкт-Петербург

²Мурманский морской биологический институт КНЦ РАН, Мурманск

³Санкт-Петербургский Государственный Университет, Санкт-Петербург

e-mail: berger.vic@gmail.com

e-mail: mityaev@mmbi.info

e-mail: alexey.sukhotin@zin.ru

Поступила в редакцию 20.10.2014 г.

После доработки 03.04.2015 г.

В работе представлены результаты экспериментов, свидетельствующие о возможности использовать метод мокрого сжигания для определения концентрации органического углерода в морской взвеси. Описана методика устранения ошибки измерения, вызванной воздействием хлоридов на процессы бихроматного окисления органических веществ. Приведена формула расчета концентрации органического углерода в зависимости от концентрации хлористого натрия.

DOI: 10.7868/S0030157416020015

ВВЕДЕНИЕ

Органические вещества (ОВ) играют важную роль в жизнедеятельности гидробионтов, не только как источники пищи, но и как сигнальные факторы [20, 27, 15, 23]. Исследование их содержания, пространственных изменений концентрации и биохимического состава в воде океанов, морей и пресных водоемов весьма многочисленны и до сих пор не потеряли своей актуальности [20, 9, 19, 11, 12, 25, 16, 17, 1, 6].

Репрезентативным показателем ОВ является концентрация органического углерода ($C_{\text{орг}}$), составляющего около 50% от общего содержания ОВ [9]. Используемые методы определения концентрации $C_{\text{орг}}$ можно разделить на три типа: методы сухого сжигания, методы мокрого сжигания и методы фотоокисления. Все они имеют как преимущества, так и недостатки, но до сих пор нет однозначного ответа на вопрос о том, какой из этих методов наиболее эффективен при определении содержания $C_{\text{орг}}$ в воде [28, 1].

Один из часто используемых вариантов мокрого сжигания, основан на окислении ОВ с помощью смеси бихромата калия и концентрированной серной кислоты. Введенный в практику почвенных анализов, он известен в зарубежной научной литературе как метод Вэлкли–Блэка [29], а в отечественных работах, как метод Тюрина [14].

В то же время его стали использовать и в гидро-биологических исследованиях, проводимых сначала на пресных водоемах [2, 21], а затем и при определении содержания ОВ в морской воде [26, 10, 8 и др.].

Использование этого метода для определения содержания ОВ в морской воде имеет свои особенности. Дело в том, что ионы хлора восстанавливают бихромат калия, тем самым искажая результаты [8, 24, 13, 18]. Для устранения этого эффекта используются разные приемы. Наиболее принято промывать осевшее на стекловолочнистых фильтрах вещество растворами ацетата или формиата аммония, изотоничными морской воде [22]. При этом достигается двойной эффект. Во-первых, вымываются соли, в первую очередь хлориды, составляющие основу ионного состава морской воды. Во-вторых, не разрушаются тела мельчайших организмов, входящих в состав сестона, что было бы неминуемым при промывке фильтров дистиллированной водой.

Целью настоящей работы была отработка метода мокрого сжигания в морской воде, подбор оптимального количества раствора ацетата аммония и способа промывки фильтров, вывод формулы пересчета получаемых значений в содержание $C_{\text{орг}}$ в зависимости от солености воды.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнена в 2013–2014 гг. на Беломорской биологической станции Зоологического института РАН, расположенной в устьевой части губы Чупа Кандалакшского залива Белого моря. Пробы воды для определения содержания $C_{\text{орг}}$ отбирали с глубины 0.1 м в озере Кривое, находящемся на территории биостанции. Озерная вода использовалась по двум причинам: во-первых, в ней содержатся природные взвешенные ОВ (ВОВ), во-вторых, количество солей, искажающих результаты анализа, ничтожно: 40–50 мг/л [3].

В лабораторных условиях отобранные пробы воды фильтровали через мельничное сито с ячейей 100 мкм для отделения крупных частиц. В профильтрованной воде разводили хлористый натрий в концентрации от 5 до 35 г/л. Выбор NaCl в качестве источника ионов хлора был обусловлен тем, что это химическое соединение является основным компонентом солей, сумма которых определяет величину солености морской воды [5].

Растворы хлористого натрия объемом 1–1.5 л фильтровали под вакуумом через стекловолоконистые фильтры (Labfilter, США), диаметром 47 мм, размер пор 1 мкм (retention capacity) и для удаления солей промывали раствором ацетата аммония, изотоничным беломорской воде (концентрация 23.3 г/л).

В сентябре 2013 г. опыты были выполнены в двух вариантах. В первом случае фильтры не обрабатывались раствором ацетата аммония. В другом вскрывался фильтродержатель и 5–7 мл раствора ацетата аммония наливали пипеткой на фильтр так, чтобы полностью покрыть всю его поверхность. Раствор ацетата аммония оставался на фильтре до тех пор, пока самостоятельно не проникал через его поверхность.

В июне 2014 г. работу повторили, выполнив еще одну серию опытов, в которых то же количество раствора ацетата аммония вносилось пипеткой в отверстие фильтродержателя и прокачивалось под вакуумом через стекловолоконистый фильтр. В этом случае промывка фильтров раствором ацетата аммония была менее продолжительной и, как показали результаты, менее полной и эффективной, чем в предыдущем варианте. При последующем изложении материала эксперименты с разным способом обработки фильтров раствором ацетата аммония названы соответственно опытами с их полной или частичной промывкой.

После промывки фильтры высушивались до постоянного веса в термостате при температуре 60–65°C и затем подвергались бихроматному окислению и последующему титрованию 0.02 N раствором соли Мора в соответствии с методическим протоколом [7, 4]. Количество органического

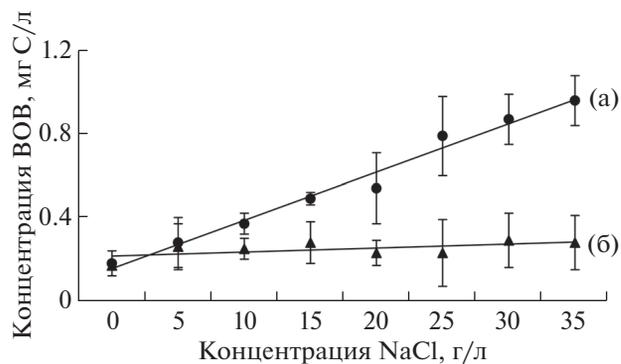


Рис. 1. Зависимость концентрации $C_{\text{орг}}$ от степени промывки вещества раствором ацетата аммония (опыт в сентябре 2013 г.). Степень промывки проб раствором ацетата аммония: (а) — без промывки, (б) — полная промывка.

го углерода, содержавшееся в пробах, рассчитывали в мг на 1 л воды.

На рисунках и в тексте статьи приведены средние арифметические величины из 3–5 измерений и их доверительные интервалы при уровне значимости $p = 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В сентябре 2013 г. опыты по бихроматному окислению ВОВ в воде с разным содержанием хлористого натрия дали следующие результаты (рис. 1).

В озерной воде концентрация $C_{\text{орг}}$ во взвеси составляла 0.18 ± 0.06 мг/л. При этом ни отсутствие обработки фильтров ацетатом аммония, ни их полная промывка не влияли достоверно на величину содержания органического углерода во взвеси (рис. 1а, 1б).

В воде с различной концентрацией NaCl при полной обработке фильтров раствором ацетата аммония величины $C_{\text{орг}}$ не менялись и в среднем составляли 0.24 ± 0.13 мг/л во всем диапазоне растворов NaCl. Зарегистрированные различия в значениях $C_{\text{орг}}$ при разном содержании NaCl были статистически недостоверны (рис. 1б).

Без промывки фильтров ацетатом аммония при добавлении хлористого натрия было зарегистрировано увеличение тестируемого показателя, пропорциональное росту концентрации NaCl. Как следует из полученных данных, при повышении концентрации хлористого натрия от 0 до 35 г/л величины тестируемого показателя увеличились в 5 с лишним раз: с 0.18 ± 0.06 до 0.96 ± 0.12 мг/л (рис. 1а).

Эксперименты, выполненные в июне 2014 г., дали сходные результаты (рис. 2). Концентрация $C_{\text{орг}}$ во взвеси в воде озера была чуть выше, чем

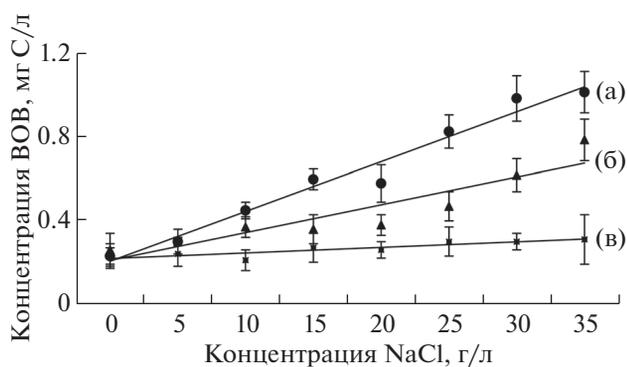


Рис. 2. Зависимость концентрации $C_{орг}$ от степени промывки вещества раствором ацетата аммония (опыт в июне 2014 г.). Степень промывки проб раствором ацетата аммония: (а) — без промывки, (б) — частичная промывка, (в) — полная промывка.

осенью предыдущего года: 0.23 ± 0.06 мг/л. При полной обработке фильтров раствором ацетата аммония зарегистрированные величины $C_{орг}$ во всем диапазоне концентраций хлористого натрия от 0 до 35 г/л не отличались достоверно ни от средней величины (0.27 ± 0.07 мг/л), ни от его содержания в озерной воде (рис. 2в).

В серии опытов, проведенных без обработки фильтров раствором ацетата аммония, зарегистрированные величины тестируемого показателя были пропорциональны концентрации хлористого натрия. В диапазоне концентраций NaCl от 0 до 35 г/л они увеличились с 0.23 ± 0.06 до 1.02 ± 0.12 мг/л (рис. 2а).

При неполной обработке фильтров раствором ацетата аммония также была выявлена линейная зависимость между величинами тестируемого показателя и концентрацией хлористого натрия в воде (рис. 2б). Однако, рост значений тестируемого показателя при увеличении концентрации NaCl от 0 до 35 г/л был значительно меньше, чем в предыдущем случае, когда фильтры не промывали раствором ацетата аммония. В этом опыте тестируемые показатели концентрации $C_{орг}$ увеличились с 0.26 ± 0.06 до 0.79 ± 0.20 мг/л.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные данные свидетельствуют о том, что использованный метод мокрого сжигания, апробированный при исследовании содержания $C_{орг}$ в пресной воде, применим и при аналогичных исследованиях на море. Однако, для получения корректных данных необходимо избавиться от влияния хлоридов, конкурирующих с окислителями и искажающих реальные величины содержания $C_{орг}$ [7, 4, 24, 13, 18 и др.]. Этого можно достичь путем тщательной и достаточно полной об-

работки проб раствором ацетата аммония, изотоничным морской воде.

Следует иметь в виду, что использование промывающего раствора изотоничного морской воде в местах сбора материала является оптимальным. Однако, не всегда это практически выполнимо, особенно в случае работ в эстуариях с изменчивым режимом солености. В этом случае можно рекомендовать использование промывающего раствора максимальной тоничности, соответствующей наиболее высокой солености воды, наблюдаемой в районе исследований. При этом, будет сведена к минимуму опасность потери части органики в процессе фильтрации, поскольку исключается возможность разрыва клеток в результате эндоосмоса воды.

Эффективность этой методической процедуры определяется не только количеством промывающего раствора, но и способом его нанесения на фильтры. Количество промывающего раствора и способ промывки следует подбирать эмпирически в соответствии с размером фильтров и конструкцией фильтродержателя. Основное требование заключается в том, чтобы фильтр был полностью покрыт раствором ацетата аммония.

Когда раствор ацетата аммония добавляется в систему фильтрации без открытия фильтродержателя, часть ионов хлора остается на фильтре и искажают реальные данные, хотя и в меньшей степени, чем в том случае, когда промывка ацетатом аммония вообще не производится. При полной промывке фильтров зарегистрированные величины концентрации $C_{орг}$ не отличались достоверно от контроля, которым в нашей работе служило содержание $C_{орг}$ в озерной воде.

Следовательно, метод бихроматного окисления позволяет определять реальные значения $C_{орг}$ в морской воде. Он прост, дешев и может быть рекомендован для массового использования в морских гидробиологических исследованиях, подобно методу Винклера по химическому определению концентрации кислорода в воде, с успехом используемого при калибровке современных оксиметров.

Поправка на концентрацию NaCl при различной степени обработки фильтров с ВОВ раствором ацетата аммония определяется из уравнения (1):

$$C_{орг} = C_{тест} - \Delta, \quad (1)$$

где $C_{орг}$ — концентрация взвешенного органического углерода, мг/л; $C_{тест}$ — значения тестируемого показателя, мг/л, Δ — поправочный коэффициент.

Коэффициент Δ прямо пропорционален концентрации NaCl (рис. 3) и площади используемых фильтров, поскольку, чем больше площадь, тем больше солей остается на фильтре по оконча-

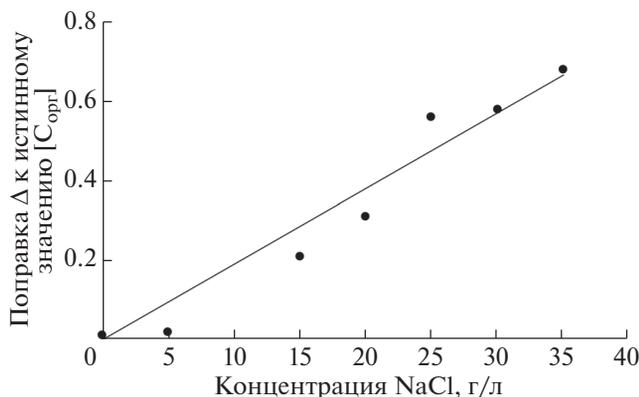


Рис. 3. Зависимость поправочного коэффициента Δ от концентрации NaCl.

нии фильтрации. Коэффициент Δ можно рассчитать по формуле (2):

$$\Delta = 0.0009D^2C_{\text{NaCl}}, \quad (2)$$

где C_{NaCl} — концентрация NaCl, г/л; D — диаметр фильтра, см.

Заканчивая статью, отметим, что при расчете влияния солености на результаты бихроматного окисления взвешенной органики можно воспользоваться данными о соотношении солености и концентрации ионов хлора, содержащимися в сводке Зубова [5].

Авторы благодарят рецензента за советы и замечания, которые способствовали значительному улучшению статьи.

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы фундаментальных исследований Отделения биологических наук РАН “Биологические ресурсы России” и Программы фундаментальных исследований Президиума РАН “Поисковые фундаментальные научные исследования в интересах развития Арктической зоны Российской Федерации”.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Агатова А.И.* (ред.). Руководство по современным биохимическим методам исследования водных экосистем, перспективных для промысла и марикультуры. М.: Изд-во ВНИРО, 2004. 123 с.
2. *Винберг Г.Г., Ивлев В.С., Платова Т.П., Россолимо Л.Л.* К методике определения органического вещества. Опыт calorической оценки кормовых запасов водоема // Труды лимнологической станции в Косине. 1934. Т. 18. С. 25–40.
3. *Виноградов Г.А.* Осмотическая регуляция некоторых ледниковых реликтовых ракообразных в связи с особенностями их экологии и происхождения // Соленостные адаптации водных организмов. Л.: ЗИН АН СССР, 1976. С. 176–209.
4. *Гигиняк Ю.Г.* Калорийность водных беспозвоночных животных // Общие основы изучения водных экосистем. Л.: Наука, 1979. С. 43–57.
5. *Зубов Н.Н.* Океанологические таблицы. Л.: Гидрометиздат, 1957. 406 с.
6. *Максимова М. П.* Сравнительная гидрохимия морей // Новые идеи в океанологии. М.: Наука, 2004. Т. 1. С. 168–189.
7. *Остапеня А.П.* Калорийность вещества тела водных организмов и методы ее определения // Методы определения продукции водных животных. Минск: БГУ, 1968. С. 26–38.
8. *Остапеня А.П., Ковалевская Р.З.* О содержании взвешенного органического вещества в поверхностном слое морских вод // Океанология. 1965. Т. 5. № 4. С. 649–652.
9. *Скопинец В.А.* Органическое вещество в природных водоемах // Тр. ГОИН. 1950. № 7 (9). 290 с.
10. *Суценья Л.М.* Некоторые данные о количестве сестона в водах Эгейского, Ионического и Адриатического морей // Океанология. 1961. Т. 1. № 4. С. 664–669.
11. *Романкевич Е.А.* Геохимия органического вещества в океане. М.: Наука, 1977. 256 с.
12. *Романкевич Е.А., Данюшевская А.И., Беляева А.Н., Русанов В.П.* Биогеохимия органического вещества арктических морей. М.: Наука, 1982. 239 с.
13. *Темерев С.В., Белов В.М., Смагин В.П.* Анализ воды. Лабораторный практикум для студентов 4-го курса химического факультета. Барнаул: Изд-во Алтайского государственного университета, 2002. 36 с.
14. *Тюрин И.В.* Новое видоизменение объемного метода определения гумуса с помощью хромовой кислоты // Почвоведение. 1934. № 5–6. С. 36–47.
15. *Хайлов К.М.* Экологический метаболизм в море. Киев: Наукова думка, 1971. 252 с.
16. *Agatova A.I., Dafner E.V., Sapozhnikov V.V. et al.* The organic matter of the White Sea: the rate of transformation and regeneration of nutrients in summer // Russ. J. Aquatic Ecol. 1993. V. 2. P. 35–48.
17. *Agatova A.I., Torgunova N.I., Lapina N.M., Kirpichev K.B.* Organic matter and its biochemical composition in various ecosystems of the White Sea // Oceanology. 2003. V. 43. P. 573–584.
18. *Bisutti I., Hilke I., Raessler M.* Determination of total organic carbon — an overview of current methods // Trends in Analytical Chemistry. 2004. V. 23. №. 10–11. P. 716–726.
19. *Duursma E.K.* The dissolved organic constituents of sea water // Chemical Oceanography. Acad. Press. London—N.Y., 1965. V. 1. 433 p.
20. *Harvey H.W.* Biological chemistry and physics of sea water. London: Cambridge Univ. Press, 1928. 194 p.
21. *Ivlev V.S.* Eine Mikromethode zur Bestimmung des Kaloriengehalts von Nährstoffen // Bioch. Ztsh. 1934. V. 275. P. 49–61.
22. *Karl D.M., Dore J.E., Hebel D.V., Winn C.* Procedures for particulate carbon, nitrogen, phosphorus and total mass analyses used in the US-JGOFS Hawaii Ocean Time-Series Program // Marine Particles: Analysis and Characterization / Eds. Spencer D., Hurd D. American

- Geophysical Union, Geophysical Monograph. V. 63. P. 71–77.
23. *Lee C., Wakeham S.G.* Organic Matter in Seawater Biogeochemical Processes // *Chemical Oceanography*. 1988. V. 9. P. 1–51.
24. *Nelson D.V., Sommer L.E.* Total carbon, organic carbon and organic matter // *Soil. Sci. Soc. Am. Madison*. 1996. V. 5. 435 p.
25. *Seki H.* Organic Materials in Aquatic Ecosystems. CRC Press. Inc. 1982. 200 p.
26. *Strickland J.D.H.* Measuring the production of marine phytoplankton // *Bull. Fish. Res. Board Canada*. 1960. V. 122. P. 1–72.
27. *Strickland J.D.H.* Production of organic matter in the primary stages of marine food chain // *Chemical Oceanography*. Acad. Press. London – N.Y., 1965. V. 1. 478 p.
28. *Sharp J.H.* Improved analysis for “particulate” organic carbon and nitrogen from seawater // *Limnol. Oceanogr.* 1974. V. 19. P. 984–989.
29. *Walkley A., Black I.A.* An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method // *Soil Science*. 1934. V. 37. P. 29–38.

Practical Experience of Wet Oxidation Method to Determine the Concentration of Suspended Organic Matter in Seawater

V. Ja. Berger, M. V. Mityaev, A. A. Sukhotin

We present the results of the experiments showing the possibility of using wet oxidation method for determining the concentration of organic carbon in marine suspended particulate matter. A method to eliminate measurement errors caused by the influence of chlorides on the processes of bichromate oxidation of organic substances is described. A correction for the organic carbon content as a function of sodium chloride concentration is provided.