

ГОСТ 17.1.4.02—90

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

---

**ВОДА**

**МЕТОДИКА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО  
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ХЛОРОФИЛЛА *a***

Издание официальное

ИПК ИЗДАТЕЛЬСТВО СТАНДАРТОВ  
Москва

## МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

## ВОДА

Методика спектрофотометрического определения  
хлорофилла *a*ГОСТ  
17.1.4.02—90Water. Spectrophotometric determination  
of chlorophyll *a*

ОКСТУ 2209

Дата введения 01.01.91

## ВВЕДЕНИЕ

Хлорофилл *a* — основной пигмент зеленых растений, в том числе одноклеточных водорослей (фитопланктона). Из нескольких десятков пигментов, содержащихся в фотосинтетическом аппарате водорослей, хлорофиллу *a* отведена важнейшая роль в процессе фотосинтеза. Информация о концентрации хлорофилла *a* и ее изменчивости в водном объекте служит критерием при оценке запасов биомассы фитопланктона и его продукции, а также индикатором загрязнения вод. Соотношение между концентрацией хлорофилла *a* и продуктами его превращений, а также другими пигментами (хлорофилл *b*, хлорофилл  $c_1 + c_2$ , каротиноиды) характеризует физиологическое состояние водорослей.

## 1. НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ РАСПРОСТРАНЕНИЯ

1.1. Методика регламентирует определение содержания хлорофилла *a* фитопланктона в пробах вод морских и поверхностных суши. Допускается использовать данную методику для определения хлорофилла *a* микрофитобентоса и микрофлоры льда. Результаты определений по данному стандарту могут быть использованы для калибровки непрямых методов оценки содержания хлорофилла *a*, в том числе при космическом зондировании состояния водных объектов, а также при регистрации роста водорослей в биохимических экспериментах.

1.2. Методика предназначена для органов государственного контроля за состоянием водных объектов, ведомственных научно-исследовательских экологических и промысловых работ.

1.3. Диапазон определяемых концентраций хлорофилла *a*, для которого устанавливаются пределы допускаемой погрешности определений, выполняемых по данной методике, составляет от  $0,05 \text{ мг} \cdot \text{м}^{-3}$  до любых максимальных значений, встречающихся в природных водах.

Издание официальное

Перепечатка воспрещена

© Издательство стандартов, 1990  
© ИПК Издательство стандартов, 1999

1.4. Основными компонентами, мешающими анализу, являются хлорофилл *b*, хлорофилл  $c_1+c_2$ , феофитин *a*, феофорбид *a* и хлорофиллид *a*. Содержание хлорофилла *b*, хлорофилла  $c_1+c_2$ , суммарное содержание феофитина *a* и феофорбида *a* соизмеримо с содержанием хлорофилла *a*, поэтому поправка на присутствие этих пигментов вносится при расчете концентрации хлорофилла *a*. Содержание хлорофиллида *a* обычно несоизмеримо мало по сравнению с содержанием хлорофилла *a*, поэтому поправка на его присутствие не вносится.

1.5. Определяемое вещество — хлорофилл *a* — легко разрушается под воздействием света, при повышении температуры и в кислой среде, поэтому при проведении любых процедур, начиная с момента отбора пробы и до окончания спектрофотометрирования, следует обеспечить нахождение объекта анализа (пробы, фильтра с осадком или экстракта) в затемненном прохладном месте при отсутствии паров кислоты.

1.6. Продолжительность анализа одной пробы от момента ее отбора до окончания спектрофотометрирования без учета времени хранения пробы, фильтра с осадком и экстракта не должна превышать 3 ч.

## 2. ССЫЛКИ НА СТАНДАРТЫ, СОВМЕСТНО С КОТОРЫМИ ДОЛЖЕН ПРИМЕНЯТЬСЯ НАСТОЯЩИЙ СТАНДАРТ

ГОСТ 17.1.5.04 Охрана природы. Гидросфера. Приборы и устройства для отбора, первичной обработки и хранения проб природных вод. Общие технические условия.

ИСО 5667-2 Качество воды. Отбор проб. Часть 2. Руководство по методам отбора проб.

## 3. СУЩНОСТЬ МЕТОДА

В основе метода — спектрофотометрирование экстракта пигментов до и после его подкисления раствором соляной кислоты. Расчеты концентрации хлорофилла *a* основаны на известных удельных спектральных показателях поглощения света хлорофиллом *a* и основными компонентами, мешающими анализу.

Для приготовления экстракта пробу воды фильтруют через мембранный фильтр с нанесенным на нем слоем углекислого бария или магния, осадок размельчают (гомогенизируют), пигменты экстрагируют водным ацетоном из гомогената и удаляют центрифугированием из экстракта светорассеивающую взвесь.

## 4. РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ

- 4.1. Силикагель по ГОСТ 3956.
- 4.2. Ацетон ч.д.а. по ГОСТ 2603.
- 4.3. Вода дистиллированная по ГОСТ 6709.
- 4.4. Кислота соляная х.ч. по ГОСТ 3118.
- 4.5. Барий углекислый ч.д.а. по ГОСТ 4158.
- 4.6. Магний углекислый основной ч.д.а. по ГОСТ 6419.
- 4.7. Бумага фильтровальная — по нормативно-технической документации (НТД).

4.8. Фильтры мембранные размерами пор 0,6—0,9 мкм: отечественного производства «Владипор» типа МФА-МА №№ 6—9 (0,6—0,9 мкм) (см. приложение 1, п. 2) или типа МФЦ № 4 (0,6 мкм) по НТД; производства зарубежных фирм Synpor № 4 (0,85 мкм) или № 5 (0,6 мкм), Millipore HA, Whatman GF/F.

## 5. СРЕДСТВА ИЗМЕРЕНИЙ И ОБОРУДОВАНИЕ

5.1. Спектрофотометр. Выделяемый спектральный интервал должен быть не более 2—3 нм, точность установки длин волн в диапазоне 430—750 нм не ниже  $\pm 2$  нм, погрешность измерений по шкале оптических плотностей не более 0,01 Б. Например спектрофотометры: двухлучевой типа СФ-18 или однолучевой типа СФ-46 по НТД.

5.2. Центрифуга лабораторная. Вместимость пробирок 10 см<sup>3</sup>, число гнезд 6(12), ускорение 4000—5000 g. Например, типа ЦЛН-2 или ОПн-ВУХЛ 4.2 по НТД.

5.3. Установка фильтровальная с воронками под фильтры мембранные диаметром от 35 до 142 мм (см. приложения 3 и 4).

5.4. Гомогенизатор механический вместимостью 10—15 см<sup>3</sup>. Ступка фарфоровая № 1—3 (диаметр 50—90 мм) с пестиком № 2 (диаметр 22—34 мм) по ГОСТ 9147. Рекомендуется также устройство из стекла, схема которого дана в приложении 5.

5.5. Насос вакуумный, типа НВР-1 или ЗНВР-ИД, или отсасыватель хирургический ОХ-10 по НТД.

5.6. Батометр (см. приложение 1, п. 1).

5.7. Канистры полиэтиленовые черного цвета вместимостью 3, 5, 10 и 20 дм<sup>3</sup>.

5.8. Ведро полиэтиленовое или эмалированное.

5.9. Эксикатор диаметром 140, 190 или 250 мм по ГОСТ 25336.

5.10. Пробирки стеклянные градуированные с притертой пробкой на 10 см<sup>3</sup> с ценой деления 0,1 см<sup>3</sup> по ГОСТ 1770 и НТД.

## 6. ПОДГОТОВКА РЕАКТИВОВ И ФИЛЬТРОВ

6.1. Порошок углекислого бария ( $\text{BaCO}_3$ ) тщательно растирают в фарфоровой ступке с добавлением небольшого количества дистиллированной воды или фильтрованной природной. Из полученной массы удаляют самую грубую фракцию, оседающую со скоростью более  $0,5 \text{ см} \cdot \text{с}^{-1}$ , после чего эту массу используют для приготовления суспензии. Рекомендуемая концентрация  $\text{BaCO}_3$  в суспензии 30 гдм<sup>-3</sup>. Порция суспензии, добавляемой в фильтровальную воронку перед фильтрованием, берется из расчета 20 мг  $\text{BaCO}_3$  на 1 см<sup>2</sup> поверхности фильтра.

6.2. Мембранные фильтры готовят в зависимости от типа материала фильтра. Некоторые типы фильтров выпускают готовыми к использованию (например, стекловолоконистые фильтры типа GF/F), другие требуют предварительного вымачивания или даже кипячения в воде. Например, фильтры типа Synpor необходимо трижды прокипятить по 10—15 мин в свежих порциях дистиллированной воды. После кипячения следует провести выбраковку деформированных фильтров. Готовые фильтры хранят в сухом состоянии.

6.3. Приготовление 1 дм<sup>3</sup> 90 %-ного водного ацетона проводят смешением 0,9 дм<sup>3</sup> 100 %-ного ацетона и 0,1 дм<sup>3</sup> дистиллированной воды. В приготовленный раствор добавляют порцию MgCO<sub>3</sub> из расчета 1—2 г на 1 дм<sup>3</sup> раствора, суспензию тщательно перемешивают в течение 20—30 с и хранят не более 3—5 сут в склянках из темного стекла.

6.4. 0,5 см<sup>3</sup> концентрированной соляной кислоты растворяют в 10 см<sup>3</sup> ацетона. Приготовленный раствор хранят не более суток.

## 7. ФИЛЬТРОВАНИЕ ПРОБ ВОДЫ И ХРАНЕНИЕ ФИЛЬТРОВ

7.1. Объем пробы зависит от ожидаемой концентрации хлорофилла *a* в конкретном водном объекте и определяется в соответствии с приложением 2, при этом количество хлорофилла в пробе должно составлять от 2 до 20 мкг.

Из этих же соображений выбирается объем пробы грунта или льда при анализе микрофитобентоса или ледовой микрофлоры.

7.2. После отбора пробу необходимо немедленно профильтровать. При отсутствии такой возможности допускается хранить ее в холодильнике при температуре от 2 до 6 °С. Максимально допустимая продолжительность хранения с момента отбора — не более 2—3 ч. После хранения, перед началом фильтрования, пробу необходимо осторожно перемешать. К материалу емкости для хранения пробы предъявляют те же требования, что и к материалу для изготовления устройства для отбора пробы (см. приложение 1).

7.3. Пробу воды фильтруют через мембранный фильтр (см. п. 4.8), покрытый слоем BaCO<sub>3</sub> (или MgCO<sub>3</sub>). Фильтрование проводят под вакуумом или под давлением (в том числе самотеком), перепад давления — 0,15—0,2 атм.

Для получения на фильтре достаточно плотного и равномерного по толщине слоя BaCO<sub>3</sub> и во избежание его взмучивания фильтрование необходимо проводить в следующей последовательности: заполнить фильтровальную воронку смесью фильтрата с порцией суспензии BaCO<sub>3</sub>, создать перепад давления, пропустить через фильтр некоторое количество фильтрата для полного осаждения BaCO<sub>3</sub>, после чего приступить к фильтрованию отобранной пробы.

В процессе фильтрования необходимо следить за уровнем воды в фильтровальной воронке и не допускать размывания слоя BaCO<sub>3</sub> струей, поступающей в воронку.

После окончания фильтрования для подсушки фильтра следует поддержать перепад давления в течение еще 5—10 с.

7.4. При значительной мутности пробы допускается применение фильтров с диаметром пор до 2,5 мкм и перепад давления до 0,5—0,6 атм. При этом допускается для последующего приготовления экстракта (см. разд. 8) использовать слой BaCO<sub>3</sub> вместе с фильтром. В этом случае необходимо убедиться в отсутствии потерь водорослей вследствие их продавливания через слой BaCO<sub>3</sub> и фильтр. Контрольное определение содержания хлорофилла рекомендуется проводить, отфильтровывая мутную пробу на фильтр большого диаметра (или на несколько фильтров того же диаметра) с порами 0,6—0,9 мкм при перепаде давления 0,2 атм. Допускается контролировать присутствие хлорофилла в фильтрате с помощью флуориметра.

7.5. Продолжительность фильтрования не должна превышать 40—60 мин.

7.6. Сразу же после фильтрования необходимо подсушить фильтр с помощью фильтровальной бумаги, подкладывая ее в несколько слоев под фильтр и меняя 2—3 раза в течение 10—15 мин. Затем осадок с фильтра снять и перенести в гомогенизатор.

При невозможности начать гомогенизацию и экстрагирование необходимо немедленно фильтр с осадком тщательно высушить, поместив его в эксикатор с силикагелем, и хранить в холодильнике при температуре минус 10—0 °С. Во избежание потерь вследствие рассыпания осадка с фильтров при их хранении и транспортировке допускается хранить фильтры свернутыми пополам осадком внутрь.

7.7. Срок хранения должен быть по возможности сокращен и не превышать 1 мес (в морозильной камере при температуре ниже минус 20 °С — до 3 мес).

## 8. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

8.1. Гомогенизация и экстрагирование. Слой  $\text{BaCO}_3$ , содержащий отфильтрованную взвесь, снимают скальпелем с мембранного фильтра и количественно переносят в механический гомогенизатор. После добавления туда же нескольких кубических сантиметров 90 %-ного ацетона в течение 1 мин взвесь растирают. Для экстрагирования пигментов гомогенат в течение 30 мин выдерживают при комнатной температуре. Полученный экстракт сливают в центрифужную пробирку. Осадок повторно растирают в гомогенизаторе в течение 1 мин при добавлении новой порции 90 %-ного ацетона. Через 30 мин вторую порцию экстракта вместе с осадком сливают в ту же центрифужную пробирку. Остатки экстракта и взвеси со ступицы и пестика смывают минимальным количеством 90 %-ного ацетона и также сливают в центрифужную пробирку с экстрактом.

При анализе фитопланктона, богатого зелеными и сине-зелеными водорослями с толстыми оболочками или слизью, для повышения полноты гомогенизации при растирании допускается добавить кварцевый песок или толченое стекло марки «пирекс».

Взвесь, осажденную на фильтр из стекловолокна, допускается гомогенизировать вместе с фильтром. В этом случае следует использовать гомогенизатор со сферическими рабочими поверхностями.

Кроме механического растирания допускаются другие способы гомогенизации, например с помощью ультразвука. При этом способе необходимо следить за отсутствием чрезмерного, выше 40 °С, нагрева обрабатываемой взвеси.

Высокая степень гомогенизации достигается также продавливанием замороженной взвеси под большим давлением через узкое отверстие (фильеру).

8.2. Центрифугирование. Светорассеивающую взвесь удаляют из экстракта центрифугированием при 4000—5000 г в течение 15 мин, например на центрифуге типа ЦЛН-2 при 8000 об/мин. Чистоту экстракта контролируют по оптической плотности на 750 нм. Последняя не должна превышать 0,005 Б на каждый сантиметр рабочей длины кюветы. При более высокой плотности центрифугирование следует повторить.

После центрифугирования экстракт следует перенести в стеклянную мерную пробирку, при необходимости добавляя 90 %-ный ацетон, довести его объем до

объема фотометрической кюветы и закрыть пробирку притертой пробкой (см. приложение 2, табл. 5).

Подготовленный к фотометрированию экстракт допускается хранить в холодильнике при температуре 0—5 °С не более 1 сут.

8.3. Спектрофотометрирование и подкисление экстракта. При спектрофотометрировании используются кюветы с рабочей длиной от 0,5 до 5 см в зависимости от объема экстракта и его оптической плотности. Последняя должна находиться в диапазоне 0,05—0,8 Б.

Отсчеты оптических плотностей берутся на четырех длинах волн — 664, 647, 630 и 750 нм. Фотометрирование проводят дважды: до и после подкисления экстракта несколькими каплями приготовленного раствора соляной кислоты в ацетоне.

Количество кислоты, добавляемой в экстракт, зависит от его объема и рассчитывается таким образом, чтобы концентрация кислоты в нем равнялась 3—5 ммоль·дм<sup>-3</sup>. Такая концентрация будет получена, если к каждому кубическому сантиметру экстракта добавить 0,01 см<sup>3</sup> приготовленного заранее раствора HCl (см. п. 6.4). После добавления кислоты экстракт необходимо перемешать в течение 2—3 мин.

При фотометрировании подкисленного экстракта отсчеты берутся на двух длинах волн — 664 и 750 нм.

Одновременно с определением концентрации хлорофилла *a* допускается определять концентрации и других пигментов: феофитина *a*, хлорофиллов *b* и *c*<sub>1</sub>+*c*<sub>2</sub>, суммарную концентрацию каротиноидов, а также пигментный индекс (см. п. 9.3). С этой целью необходимо до подкисления экстракта дополнительно взять отсчеты еще на двух длинах волн — 430 и 480 нм.

## 9. ОБРАБОТКА РЕЗУЛЬТАТОВ

9.1. Концентрацию хлорофилла *a* в пробе  $c_{xa}$  вычисляют по формуле

$$c_{xa} = 2,44 \frac{D_{664} - D_{664}^k}{D_{664}} c'_{xa}, \quad (1)$$

где  $D_{664}$  и  $D_{664}^k$  — оптические плотности экстракта в белых на длине волны 664 нм до и после его подкисления. Концентрации хлорофилла *a* в пробе, мкг·дм<sup>-3</sup>, без поправки на присутствие феофитина *a* ( $c'_{xa}$ ) вычисляют по формуле

$$c'_{xa} = (11,85D_{664} - 1,54D_{647} - 0,08D_{630}) \frac{V_2}{V_{np} \cdot l}, \quad (2)$$

где  $D_{630}$  и  $D_{647}$  — оптические плотности экстракта в белых на длинах волн 630 и 647 нм;

$V_2$  — объем экстракта, см<sup>3</sup>;

$V_{np}$  — объем пробы, дм<sup>3</sup>;

$l$  — длина кюветы, см.

9.2. Концентрации других пигментов  $c_{fa}$ ,  $c_b$ ,  $c_{c_1+c_2}$ ,  $c_k$ , мкг·дм<sup>-3</sup>, рассчитывают по формулам:

$$c_{\text{фа}} = 2,44 \frac{1,7D_{664}^{\lambda} - D_{664}}{D_{664}} c'_{\text{ха}}; \quad (3)$$

$$c_{\delta} = (21,03D_{647} - 5,43D_{664} - 2,66D_{630}) \frac{V_{\lambda}}{V_{\text{np}} l}; \quad (4)$$

$$c_{c_1 + c_2} = (24,52D_{630} - 1,67D_{664} - 7,6D_{647}) \frac{V_{\lambda}}{V_{\text{np}} l}. \quad (5)$$

В том случае, если в пробе содержатся преимущественно зеленые или сине-зеленые водоросли, то концентрации каротиноидов  $c_k$ , мкг·дм<sup>-3</sup>, вычисляют по формуле

$$c_k = 4D_{480} \frac{V_{\lambda}}{V_{\text{np}} l}. \quad (6)$$

При доминировании диатомовых, перидиней, золотистых и разножгутиковых — по формуле

$$c_c = 10D_{480} \frac{V_{\lambda}}{V_{\text{np}} l}. \quad (7)$$

9.3. Пигментный индекс в экстракте вычисляют по формуле

$$I_{430/664} = \frac{D_{430}}{D_{664}}. \quad (8)$$

9.4. Все оптические плотности, входящие в формулы (1) — (8), берутся с учетом поправки, которая равна оптической плотности на длине волны 750 нм. Эта поправка вычитается из значения измеренной оптической плотности.

За результат определений принимают единичный результат для каждой пробы.

## 10. ПОГРЕШНОСТЬ ОПРЕДЕЛЕНИЙ

При соблюдении требований, предусмотренных данным стандартом, погрешность текущих определений хлорофилла  $a \pm \delta$ , в процентах не будет превышать значений, указанных в табл. 1.

Таблица 1

| Концентрация хлорофилла <i>a</i><br>в пробе воды, мкг дм <sup>-3</sup> | Ориентировочная<br>концентрация хлорофилла <i>a</i><br>в экстракте, мкг см <sup>-3</sup> | Погрешность $\pm \delta$ , % |
|--|--|------------------------------|
| <0,02  | <0,25  | 100                          |
| 0,02—0,07  | 0,25—0,5   | 50                           |
| 0,07—0,2   | 0,5 —1,5   | 30                           |
| 0,2 —0,7   | 1,5 —2,5   | 20                           |
| >0,7   | >2,5   | 10                           |

## **11. РЕГУЛЯРНЫЙ КОНТРОЛЬ ПОГРЕШНОСТИ ТЕКУЩИХ ОПРЕДЕЛЕНИЙ**

Строгое соблюдение требований настоящего стандарта обеспечивает исключение всех составляющих погрешности, кроме тех, которые возникают при фотометрировании экстракта. Поэтому для обеспечения текущих определений с регламентированной погрешностью наряду с соблюдением требований, установленных методикой, следует регулярно контролировать погрешность, возникающую при спектрофотометрировании.

С этой целью в соответствии с требованиями ГОСТ 8.513\* необходимо ежегодно проводить обязательную государственную поверку спектрофотометра. Кроме того, перед каждой серией текущих определений, но не реже одного раза в месяц следует оценивать погрешность определений оптической плотности и установки шкалы длин волн путем сравнения спектров контрольных светофильтров, входящих в комплект прибора, с их спектрами, указанными в паспорте.

## **12. ТРЕБОВАНИЯ К ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ ОТХОДОВ АНАЛИЗА, К БЕЗОПАСНОСТИ И КВАЛИФИКАЦИИ ОПЕРАТОРА**

Слив отходов анализа в канализацию допускается после их предварительного разбавления не менее чем в 100 раз.

В процессе анализа требуется соблюдение мер предосторожности, регламентируемых при работе с вредными веществами (для ацетона, соляной кислоты и углекислого бария) по ГОСТ 12.1.005 и ГОСТ 12.1.007.

Лица, допускаемые к выполнению измерений, должны обладать опытом проведения типовых биохимических анализов, а также навыками обращения со спектрофотометрами.

## **13. ФОРМА ОТЧЕТА О ПРОВЕДЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ**

В отчете должна быть следующая информация:

- место, время и устройство отбора проб;
- результаты должны быть выражены в соответствии с разд. 9;
- любые отклонения от данной методики и другие обстоятельства, которые могут повлиять на результаты определений;
- ссылка на настоящий стандарт.

---

\* На территории Российской Федерации действуют ПР 50.2.006—94.

## БАТОМЕТРЫ И ФИЛЬТРЫ

## 1. Устройства для отбора проб

Устройствами для отбора проб могут служить:

батометр, срабатывающий от посыльного грузика или электрического импульса на заданной глубине;

батометр для отбора «интегральной» пробы, снабженный устройством для обеспечения равномерного поступления воды при равномерном движении батометра в слое отбора;

шланг (с насосом или без насоса);

ведро (для отбора проб с поверхности).

Материал для изготовления рабочих емкостей устройств для отбора, с которыми непосредственно контактирует отобранная проба, должен быть непрозрачным, нетоксичным, коррозионно-стойким. Оптимально удовлетворяет этим требованиям черный полиэтилен. Для батометра допускается винипласт, оргстекло, другие пластмассы, стекло. При этом прозрачные материалы должны иметь снаружи непрозрачное покрытие. Перед началом работ устройство для отбора необходимо в течение нескольких дней выдержать в воде и тщательно отмыть.

Для изготовления батометров можно воспользоваться конструкторскими разработками, осуществленными в ОКБ океанологической техники Института океанологии АН СССР (см. табл. 2). Вместимость и марки батометров указаны в табл. 2.

Таблица 2

| Вместимость батометра, дм <sup>3</sup> | Марка батометра по спецификации ОКБ ОТ ИО АН СССР | Вместимость батометра, дм <sup>3</sup> | Марка батометра по спецификации ОКБ ОТ ИО АН СССР |
|--|---|--|---|
| 1                                      | БП-1—63   | 10                                     | БМ <sub>10</sub> —00—00                           |
| 2,5                                    | ОА-07.00.00.00                                    | 30                                     | БМ <sub>30</sub> —00—00                           |
| 2,5                                    | 2БМ <sub>2,5</sub> —00—00                         | 130                                    | 2А.011.00.00.00                                   |
| 7                                      | Б4—С7—65  | 150                                    | 0А.285.00.00.00                                   |

Кроме того, выпускается «барометр морской» вместимостью 1 дм<sup>3</sup> марки БМ-48.

Для защиты этих батометров от коррозии рекомендуется двухразовое покрытие их внутренней поверхности лаком марки ЭДН-1 по нормативно-технической документации или аналогичным.

2. Размеры мембранных фильтров отечественного производства (мембраны «ВЛАДИПОР» типа МФА-МА ПО «ТАСМА») указаны в табл. 3.

Таблица 3

| Диаметр диска, мм | Минимальный объем партии, шт. | Диаметр диска, мм | Минимальный объем партии, шт. |
|-------------------|-------------------------------|-------------------|-------------------------------|
| 35 <sub>-2</sub>  | 10000                         | 90 <sub>-3</sub>  | 1500                          |
| 47 <sub>-2</sub>  | 6000                          | 142 <sub>-4</sub> | 500                           |

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОБЪЕМОВ ПРОБ

Ориентировочно оценить объем пробы при заданной величине ожидаемой концентрации хлорофилла  $a$  в пробе можно по табл. 4.

Таблица 4

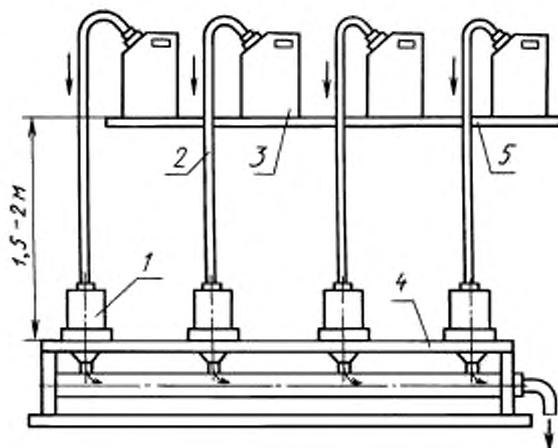
|   |          |               |      |      |       |       |          |          |
|---|----------|---------------|------|------|-------|-------|----------|----------|
| Концентрация хлорофилла $a$ в пробе, $\text{мг м}^{-3}$ | 0,05     | 0,1           | 0,5  | 1    | 5     | 10    | 50       | 100      |
| Объем пробы, $\text{дм}^3$                              | Более 40 | 20—50 и более | 5—50 | 2—20 | 0,4—4 | 0,2—2 | 0,04—0,4 | 0,02—0,2 |

Примечание. Приведенные объемы проб рассчитаны исходя из оптимального диапазона оптических плотностей экстракта на длине волны 664 нм (0,05—0,8 Б) и характерного отношения объема к рабочей длине для кювет, обычно используемых при фотометрировании. Это отношение может меняться от 2,5 до 4. При использовании специальных кювет с меньшим отношением объема к длине объем проб следует уменьшить пропорционально уменьшению указанного отношения. Ориентировочные соотношения между количеством хлорофилла  $a$  в экстракте, длиной кюветы ( $l$ ), объемом экстракта в кювете ( $V_k$ ), концентрацией хлорофилла  $a$  в экстракте ( $c_{\text{хл}}$ ) и оптической плотностью  $D_{664}$  приведены в табл. 5.

Таблица 5

| Количество хлорофилла $a$ в экстракте, $\text{мкг}$ | 2    |      |     | 5     |       |      | 10   |      |     | 20  |     |    |
|---|------|------|-----|-------|-------|------|------|------|-----|-----|-----|----|
|   | 1    | 2    | 5   | 1     | 2     | 5    | 1    | 2    | 5   | 1   | 2   | 5  |
| $l$ , см  | 4    | 8    | 20  | 4     | 8     | 20   | 4    | 8    | 20  | 4   | 8   | 20 |
| $V_k$ , $\text{см}^3$                               | 0,5  | 0,25 | 0,1 | 1,25  | 0,625 | 0,25 | 2,5  | 1,25 | 0,5 | 5   | 2,5 | 1  |
| $D_{664}$ , Б                                       | 0,05 |      |     | 0,125 |       |      | 0,25 |      |     | 0,5 |     |    |

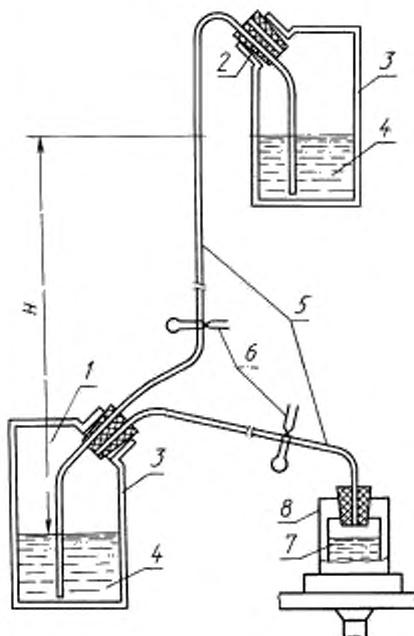
Схема фильтровальной установки для фильтрования самотеком в полевых условиях



1 — воронка фильтровальная (например, В-67, разработка ОКБ ОТ ИО АН СССР, см. приложение 1); 2 — трубка полистиленовая; 3 — канистра полиэтиленовая,  
4 — штатив для воронок; 5 — полка для канистр

Черт. 1

Схема установки для получения сжатого воздуха, используемого при завершении  
фильтрации самотеком или при фильтрации проб малого объема  
в полевых условиях



1 — сжатый воздух; 2 — пробка; 3 — канистра; 4 — вода;  
5 — трубка; 6 — зажим; 7 — анализируемая проба; 8 — воронка фильтровальная

Черт. 2

## Примечания:

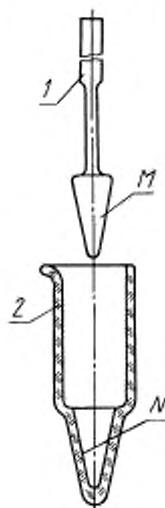
1. Предпочтительнее использовать дюралевые канистры, однако при небольшом давлении (до 0,15—0,2 атм) пригодны канистры из твердого полиэтилена.
2. Для получения запаса сжатого воздуха в нижней канистре следует:
  - а) собрать установку по схеме, изображенной на черт. 2, заполнить верхнюю канистру водой до уровня, не доходящего до пробки на несколько сантиметров;
  - б) разжать верхний зажим и зажать нижний;
  - в) наклонить верхнюю канистру так, чтобы вода начала поступать по трубке в нижнюю, после чего вернуть ее в нормальное положение;

г) после перетекания воды в нижнюю канистру в ней образуется запас сжатого воздуха, давление в котором будет определяться разностью уровней воды в канистрах — Н.

3. Для создания давления можно использовать любую чистую воду (фильтрованную или водопроводную) в дюралевых канистрах — желательно пресную.

*ПРИЛОЖЕНИЕ 5*  
*Рекомендуемое*

**Схема гомогенизатора**



1 — пестик; 2 — ступица

Черт. 3

**Примечание.** Наружная коническая поверхность *M* пестика и внутренняя поверхность *N* ступицы взаимно шлифованы.

## ИНФОРМАЦИОННЫЕ ДАННЫЕ

1. РАЗРАБОТАН И ВНЕСЕН Институтом океанологии АН СССР, соисполнитель — Гидрохимический институт Госкомгидромета СССР

## РАЗРАБОТЧИКИ

М.Е. Виноградов, член-корр. АН СССР; Б.В. Коновалов, канд. биол. наук (руководители темы); В.А. Кимстач, д-р хим. наук; А.А. Назарова, канд. хим. наук; Т.О. Гончарова, канд. хим. наук

2. УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Постановлением Государственного комитета СССР по охране природы от 03.07.90 № 28

3. ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

## 4. ССЫЛОЧНЫЕ НОРМАТИВНО-ТЕХНИЧЕСКИЕ ДОКУМЕНТЫ

| Обозначение НТД, на который дана ссылка | Номер раздела, пункта | Обозначение НТД, на который дана ссылка | Номер раздела, пункта |
|---|-----------------------|---|-----------------------|
| ГОСТ 8.513—84                           | 11                    | ГОСТ 3956—76                            | 4.1                   |
| ГОСТ 12.1.005—88                        | 12                    | ГОСТ 4158—80                            | 4.5                   |
| ГОСТ 12.1.007—76                        | 12                    | ГОСТ 6419—78                            | 4.6                   |
| ГОСТ 17.1.5.04—81                       | 2                     | ГОСТ 6709—72                            | 4.3                   |
| ГОСТ 1770—74                            | 5.10                  | ГОСТ 9147—80                            | 5.4                   |
| ГОСТ 2603—79                            | 4.2                   | ГОСТ 25336—82                           | 5.9                   |
| ГОСТ 3118—77                            | 4.4                   | ИСО 5667-2—83                           | 2                     |

5. ПЕРЕИЗДАНИЕ. Июль 1999 г.